N° d'ordre 23

THÈSES

PRÉSENTÉES

à la FACULTÉ des SCIENCES de l'UNIVERSITÉ de CAEN

POUR OBTENIR

le grade de DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Lottie STEEG
Assistante Déléguée
(Microbiologie)
Faculté des Sciences de CAEN

1re THÈSE :

RECHERCHES SEROLOGIQUES ET MULTIPLICATIONS CELLULAIRES

2e THÈSE :

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

présentées et soutenues le 10 JUIN 1955

JURY :

M. MOREAU *Président*

MM. JACQUET, BOCQUET, LEPINE *Suffragants*

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41542714_0006

N° d'ordre 23

THÈSES

PRÉSENTÉES

à la FACULTÉ des SCIENCES de l'UNIVERSITÉ de CAEN

POUR OBTENIR

le grade de DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Lottie STEEG
Assistante Déléguée
(Microbiologie)
Faculté des Sciences de CAEN

1re THÈSE :

RECHERCHES SEROLOGIQUES ET MULTIPLICATIONS CELLULAIRES

2e THÈSE :

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

présentées et soutenues le 10 JUIN 1955

JURY :

M. MOREAU *Président*

MM. JACQUET, BOCQUET, LEPINE *Suffragants*

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

PERSONNEL ENSEIGNANT DE LA FACULTE DES SCIENCES DE CAEN

DOYEN : M. MOREAU
ASSESSEUR : M. LOZAC'H

MM.	MOREAU	: Professeur (Botanique)
	DANGEARD	: Professeur (Géologie & Paléontologie)
	SCHERER	: Professeur (Physique Générale & Minéralogie)
	LOZAC'H	: Professeur (Chimie Générale)
	APERY	: Professeur (Calcul Différentiel & Intégral)
	PAILLOUX	: Professeur (Mécanique Rationnelle)
	JACQUET	: Professeur (Microbiologie)
	BOCQUET	: Professeur (Zoologie)
	LE ROUX	: Professeur sans Chaire (Physique Appliquée)
	COLOMBANI	: Professeur sans Chaire (Physique)
Mme	WALTER-LEVY	: Professeur sans Chaire (Chimie)
MM.	REY	: Professeur sans Chaire (Zoologie)
	BACHELET	: Maître de Conférences (Chimie Générale)
	VIALLE	: Maître de Conférences (Chimie Organique et Biologie)
	HERVE	: Chargé d'Enseignement (Mathématiques)
	COJAN	: Maître de Conférences (Physique)
	SCHNELL	: Maître de Conférences (Botanique)
	GRAFF	: Maître de Conférences (Chimie)
	CAMPBELL	: Maître de Conférences (Mathématiques)
Mme	LE ROUX	: Maître de Conférences Adjoint (Zoologie)
M.	LAGET	: Chef de Travaux (Physique)
Mme	R. CHAUVENET	: Chef de Travaux (Chimie)
MM.	MESLIN	: Chef de Travaux (Botanique)
	PAREYN	: Chef de Travaux (Géologie)
	MABBOUX-STROMBERG	: Chef de Travaux (Physique)
	LEGRAND	: Chef de Travaux (Chimie)
	ROMANET	: Chef de Travaux (Chimie)
	SAUDRAY	: Chef de Travaux (Zoologie)
Mlle	THIEULIN	: Assistante (Chimie)
M.	MARIE	: Assistant (Physique)
Mme	GHINEA	: Assistante (Mathématiques)
MM.	DOGUET	: Assistant (Botanique)
	HAMELIN	: Assistant (Physique)
	BOULLARD	: Assistant (Botanique)
Mme	STEEG	: Assistante Déléguée (Microbiologie)
Mlle	LEMAITRE	: Assistante (Géologie)
Mme	BAUDUIN	: Assistante (Zoologie)
MM.	SAUSSEY	: Assistant (Zoologie)
	MOLLIER	: Assistant (Chimie)

M. CAUCAL : Secrétaire Principal des Facultés.

FACULTE DES SCIENCES DE CAEN

Nom du Candidat : S T E E G

Prénom : Lottie

Date de la Soutenance : 10 Juin 1955

N° d'ordre : 23

NOM : S T E E G

Prénom : Lottie

Sujet 1ère Thèse

Recherches Sérologiques et Multiplications Cellulaires

NOM : S T E E G

Prémom : Lottie

Sujet 1ère Thèse

Recherches Sérologiques et multiplications cellulaires

NOM : S T E E G

Prénom : Lottie

Sujet 1ère Thèse

Recherches Sérologiques et Multiplications Cellulaires

NOM : S T E E G

Prénom : Lottie

Sujet 1ère Thèse

Recherches Sérologiques et Multiplications Cellulaires

A la mémoire de mon mari

A ma mère

A mes enfants, petits enfants et mon neveu DANIEL

A mon Maître
Monsieur le Professeur JACQUET

qui fut toujours pour moi un guide
bienveillant et éclairé et qui m'a
fait bénéficier de sa riche expérience

En témoignage de mon fidèle
attachement.

A Monsieur le Doyen MOREAU
Président de Thèse

qui m'a fait le grand honneur d'accepter
la présidence de cette thèse

Avec ma gratitude pour l'aide précieuse
qu'il m'a apportée.

Aux Membres du Jury

A monsieur le Professeur BOCQUET

Avec toute ma gratitude pour la bienveillance
qu'il m'a toujours témoignée.

A monsieur le Professeur LEPINE

L'éminent microbiologiste de l'Institut PASTEUR

En remerciement de ses précieux conseils et de
l'aide qu'il m'a procuré dans son grand service.

A Monsieur le Professeur EPHRUSSI

Au Maître de la Génétique et ses
collaborateurs
qui m'ont facilité mon travail en me procurant
une bibliographie importante.

Qu'ils trouvent ici l'expression de ma
vive reconnaissance.

Aux Docteurs HISSARD & JACOB

qui ont eu l'obligeance de me prélever et me
fournir régulièrement de nombreux sérums

A tout le Personnel du Laboratoire de
Microbiologie de la Faculté
et à toutes les personnes qui m'ont
accordé leur aide pour la réalisation de ces travaux.

Mes meilleurs remerciements.

RECHERCHES SEROLOGIQUES et MULTIPLICATIONS CELLULAIRES

I N T R O D U C T I O N

En 1934, au Laboratoire et sous la direction de notre ancien maître, le Professeur NATTAN-LARRIER, nous entreprîmes toute une série de travaux pour tenter de mettre en évidence l'existence d'une sensibilisatrice anti-embryonnaire de poulet

Nous l'avons signalée, en collaboration avec NATTAN-LARRIER, dans un certain nombre de sérums humains (1934-1935 c), de sérums de lapins (1935 b), de quelques cobayes (1935 b), de poules (1935 d) et même dans le liquide qui baigne les cultures de tissus réalisées à partir du coeur d'embryon de poulet (1935a).

Malheureusement, les résultats étaient très souvent discordants et malgré le grand intérêt que nous attachions à quelques-unes de nos recherches, il nous fut impossible d'en tirer des conclusions, encore moins d'édifier à partir d'elles une doctrine cohérente. En ce qui concerne, en particulier, notre travail sur les cultures de tissus, nous fûmes obligée de nous contenter de la supposition de l'existence d'une sorte d'anticorps anti-embryonnaire, qui se trouve d'une façon irrégulière chez les poules, et qui nous semblait " persister " dans les cultures de tissus effectuées avec du plasma de poulet.

Cependant, le jus, riche en anticorps au bout de 8 jours, tend à les voir disparaître à mesure que la culture vieillit. L'hypothèse d'une simple persistance à partir du plasma aviaire initial semble donc critiquable parce que la sensibilisatrice demande 8 jours à apparaître (elle y est alors à un taux maximum) pour s'atténuer et s'effacer complètement ensuite. Il semblerait donc qu'il s'agisse non pas d'une persistance, comme nous l'avions écrit autrefois, mais plutôt d'une apparition en fonction de la pousse cellulaire jeune.

Nous avions, plus tard, retrouvé la même sensibilisatrice anti-embryonnaire d'une façon relativement regulière dans le serum d'enfants de I à 10 ans et, au contraire, d'une manière tout-à-fait variable dans le sang de sujets adultes. Les sérums de vieillards nous en paraissaient toujours riches, tandis que le sang des nouveau-nés et des femmes enceintes en était dépourvu. Nous indiquions même qu'un moyen de trouver des sérums négatifs était d'examiner des femmes en gestation (1935 c). Il paraissait donc totalement impossible de rattacher la formation de cette sensibilisatrice anti-embryonnaire à un âge évolutif par rapport à l'embryon ou à la croissance générale de l'organisme. Nous écrivions alors :

"Il semble évident que si l'on voulait prouver que la sensibilisatrice "anti-embryonnaire" dépendait exclusivement des phénomènes de croissance on devrait établir que dans le sérum des sujets dont le développement est achevé l'anticorps disparaît soit brusquement, soit graduellement pour cesser enfin d'exister chez des sujets âgés. Les recherches que nous avons faites démontrent au contraire que la sensibilisa-

trice anti-embryonnaire disparaît rarement dans le sérum de l'adulte ou même du vieillard ".

Par la suite, nous avions abandonné ces travaux pour nous concentrer uniquement sur l'étude du pouvoir anticomplèmentaire des sérums sur lequel le Professeur NATTAN - LARRIER a diffusé toute une série de publications en collaboration avec nous-même et fait préparer la thèse de Doctorat en Pharmacie de Mlle J. DUFOUR (1939).

Notre service fut ensuite brutalement supprimé en 1940 et ce n'est qu'en 1952 que nous avons retrouvé des possibilités suffisantes de travail au Laboratoire de la Chaire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de CAEN dont le titulaire est le Professeur JACQUET. Nous nous sommes alors remise, sous la direction de notre nouveau maître, à la poursuite de recherches originales que nous allons exposer au cours de ce mémoire. La reprise des travaux qui, autrefois n'avaient abouti qu'à l'exposé épars de quelques faits sans aucune conclusion, était nécessaire pour de nombreuses raisons.

Tout d'abord, la quantité des essais entrepris était très insuffisante la plupart du temps, pour avoir une idée sûre des phénomènes observés. Enfin, les techniques sérologiques que nous utilisions autrefois étaient très peu sensibles et incomplètes, si bien que certains de nos résultats étaient critiquables ou douteux, voire même faux. En particulier, la plupart des réactions avaient été faites sans tube témoin sérum; il n'y avait donc pas de possibilité d'éliminer les "faux positifs" qui n'étaient en réalité que des "anti-complémentaires". Cette faute opératoire devait

conduire parfois à des résultats radicalement contraires à ceux que nous obtenons maintenant. Les réponses sérologiques antérieures négatives étaient, en revanche, beaucoup moins sujettes à caution, bien qu'elles puissent être, parfois, entachées d'erreur par la présence possible dans le sérum étudié d'un excès d'hémolysine anti-globules rouges de mouton.

Nous avons donc multiplié les expériences depuis I952, fait varier leurs conditions, changé les espèces animales, proposé des hypothèses que nous avons cherché à vérifier. Nous espérons avoir abouti à une théorie cohérente qui rassemble les divers phénomènes constatés. Il nous a fallu, à ce propos, réviser nos publications antérieures, trier ce qui pouvait en être conservé, éliminer ce qui devait être démenti. L'ensemble de ces travaux aboutit ainsi à un certain nombre de faits nouveaux que nous allons préciser maintenant.

Seules, jusqu'ici les notions les plus générales de cet ensemble ont pu être publiées en collaboration avec le Professeur JACQUET (I954 a et b) qui nous a guidée en permanence au cours de toutes nos recherches et aidée à trouver des explications de nos observations. C'est grâce à cette direction constante que nous avons pu mener à bien tout l'ensemble du travail que nous présentons actuellement et auquel il a pris une part considérable. Nous lui en exprimons notre très vive gratitude.

CHAPITRE I

I - RAPPEL SOMMAIRE DE QUELQUES GENERALITES

Nous savons que les antigènes, qu'ils proviennent de cellules animales, végétales ou microbiennes ont le pouvoir de déterminer chez les animaux auxquels on les injecte la formation de substances spéciales : les ANTICORPS, qui appartiennent, en fait, aux gamma-globulines.

Ces mêmes produits, mis en présence des anticorps engendrés, les absorbent : les matières inoculées jouant le rôle d'antigènes se comportent ensuite comme recepteurs et fonctionnent alors comme indicateurs dans des réactions telles qu'hémolyse et floculation, par exemple.

Pour provoquer l'apparition d'anticorps, il est préférable d'administrer des antigènes à des sujets d'espèces différentes. Les animaux supérieurs sont ceux qui fabriquent le mieux les anticorps (BORDET).

Toute cellule et toute humeur peuvent renfermer certains constituants qui provoquent chez les animaux qui les reçoivent par voie parentérale l'apparition d'anticorps spécifiques.

Nous savons, comme l'ont démontré NICOLLE, DEBAINS, CESARI (1920), qu'une même substance peut contenir un antigène dominant et d'autres secondaires. Tel est le cas des hématies de cheval où les substances "secondaires" sont communes avec les hématies de boeuf et de mouton. Chez ces

derniers animaux, ils deviennent, d'ailleurs, des antigènes dominants.

Chaque cellule et chaque humeur représentent donc une véritable "mosaïque" d'antigènes comme l'a écrit, pour la première fois, Melle RAPHAEL. NICOLLE en conclut que "chaque cellule et chaque humeur est specifique par coexistence constante de certains antigènes et dominance habituelle de l'un d'entre-eux".

La substance antigénique doit, en principe, être etrangère à l'organisme qu'il s'agit d'immuniser. Cette règle souffre des exceptions; c'est ainsi qu'EHRLICH et MORGENROTH ont pu obtenir chez des chèvres des anticorps pour les globules rouges d'autres chèvres, qu'on nomme des iso-hemolysines. Nous aurons, d'ailleurs, l'occasion de revenir plus longuement sur cette notion des iso-anticorps.

On a même montré, plus récemment, que certaines substances propres de l'organisme, pourraient se comporter comme des antigènes et donner lieu à la formation d'anticorps. Il s'agit alors d'auto-anticorps.

La notion de spécificité des complexes antigène-anticorps est tout-à-fait bien établie et de nombreuses applications pratiques sont basées sur cette spécificité : séro-diagnostic de la typhoïde (WIDAL 1896), réaction d'hémolyse (BORDET, TECHESTOVITCH, EHRLICH et MORGENROTH etc....).

Les injections massives d'un antigène microbien donnent des immunsérums d'un titre agglutinant élevé mais qui possèdent des coagglutinines pour les microbes voisins de l'antigène. Exemple Eberthella et Salmonella A et B.

J.BORDET a montré que le sérum d'un lapin traité par du sang de poule détruit très activement les globules de cet animal, mais hémolyse aussi, quoique plus faiblement, les globules de sang de pigeon. Ainsi l'inoculation à l'animal d'un seul antigènes, simple en apparence, peut déterminer l'apparition de différents anticorps.

On peut donc distinguer les anticorps qui n'agissent qu'en presence du seul antigène qui a servi à l'immunisation; ce sont des iso-anticorps et ceux qui peuvent agir en présence de substances qui n'ont pas servi à l'immunisation : ce sont les hétéro-anticorps.

Il arrive, même, parfois que les hétéro-anticorps prédominent sur les iso-anticorps dans l'immunsérum. Par exemple, un mouton immunisé avec du sang de mouton donne un sérum hémolytique qui lyse les globules rouges de veau plus fortement que ceux de mouton.

C'est un fait analogue qu'a demontré FORSSMAN, dès I9II, en poursuivant ses recherches sur la formation des hémolysines anti-mouton et anti-chèvre.

FORSSMAN (I9II,I928,I929), en effet, obtint très régulièrement des sérums contenant des hémolysines anti-mouton par injections d'émulsion de divers organes de cobaye.

La sensibilisatrice anti-mouton obtenue chez le lapin par injection de globule de mouton peut affecter différents aspects :

elle agit fortement sur les globules de boeuf qui sont insensibles à l'hémolysine obtenue chez le lapin par injection d'organes de cobaye.

Cette deuxième hémolysine obtenue chez le lapin par injections d'organes de cobayes est absorbable par des organes de cobaye et, aussi, par les globules de mouton mais elle ne se combine pas avec les globules de boeuf.

Tout se passe comme s'il existait dans les globules de mouton deux antigènes capables de solliciter la production de sensibilisatrice hémolytique mais dont une seule se retrouve dans les organes du cobaye.

Ces substances douées de ces fonctions antigéniques reçurent le nom d'hetéro-antigènes ou antigène FORSSMAN.

Les anticorps qui répondent à ces antigènes sont dits hétérophiles ou anticorps FORSSMAN.

==========

Pour qu'on puisse considérer une substance comme un véritable antigène, elle doit remplir deux conditions :

I° provoquer "in vivo", l'élaboration d'anticorps

2° donner "in vitro", des réactions avec les anticorps élaborés dans l'organisme vivant.

J.BORDET a reconnu qu'au point de vue de leur répartition dans l'organisme les divers anticorps se comportent fort semblablement. C'est dans le sang qu'ils sont le plus abondants. On les trouve aussi dans la lymphe, les transsudats peritonéal, péricardique, pleural, le liquide d'oedème, rarement dans le liquide céphalorachidien. Leur présence indique alors une lésion inflammatoire des meninges.

L'apparition des immuns-anticorps exige régulièrement un délai de quelques jours. Certaines toxines font apparaître des anticorps qui, bien que s'unisaant à elles, n'en suppriment pas la toxicité ou même la respectent entièrement. Dans ce cas, on aurait l'impression que l'anticorps n'existe pas si l'on ne disposait pas pour déceler les sensibilisatrices d'une méthode telle que la fixation de l'alexine. L'abolition des propriétés specifiques d'une toxine est la conséquence secondaire de l'union qu'elle est susceptible de contracter avec l'anticorps qu'elle a fait apparaître.

Les anticorps acquis sont souvent très spécifiques et leur apparition semble absolument sous la dépendance de l'introduction des antigènes, mais il existe aussi dans les sérums normaux des anticorps peut-être moins puissants, mais comparables à ceux des immunsérums. On parle alors d'anticorps naturels. Pour les différencier des anticorps acquis correspondants, il faut étudier parallèlement l'action des agents altérants tel que la chaleur; les agglutinines normales résistent moins au chauffage que celles dûes aux immunsérums. Ce fait a été observé par de nombreux auteurs : BORDET, NEGRE, LANDSTEINER et REICH PRAZEK. Il faut tenir compte de ce fait qu'étant moins puissants, les anticorps naturels doivent, dès qu'on les affaiblit, devenir incapables de déclancher une fixation de complèment et, en conséquence, paraître plus fragiles.

La répartition des anticorps normaux est identique à celle des anticorps acquis.

Notons que l'abondance des anticorps n'est pas la même aux différentes périodes de la vie.

Cette constatation générale d'une variation du taux des anticorps avec l'âge devait nous conduire à supposer, après de nombreuses recherches, que pendant la période de jeunesse, des anticorps spécifiques de la croissance ou d'une multiplication cellulaire, pourraient être mis en évidence.

II - EXPERIENCE INITIALE

Dans nos travaux antérieurs, nous avions utilisé comme antigène, pour les réactions de dépistage des sensibilisatrices anti-embryonnaires, un extrait d'embryon de poulet de 8 jours. Il faut bien avouer que les raisons de ce choix n'avaient jamais été clairement formulées. Elles se limitent à des utilisations semblables faites antérieurement par certains auteurs, tel GRUSHKIN (1929,1932,1933), comme antigène de réactions sérologiques ou allergiques au cours de travaux sur le cancer. La constatation pratique d'une réaction positive avec certains sérums nous avait fait persévérer dans cette étude plutôt qu'un raisonnement initial. Enfin, nous avons appris, récemment que KIDD (en 1945) aurait employé comme antigène des extraits aqueux d'embryons de poulet, parallèlement à des extraits normaux ou néoplasiques pour révéler des anticorps dans le sérum de certains lapins porteurs de tumeurs.

Depuis nos premiers travaux, nous avons légèrement modifié la technique de préparation de l'extrait embryonnaire; nous avons vérifié qu'il se comportait réellement comme un antigène vrai, et non comme un simple haptène, ce que nos essais antérieurs pouvaient toujours laisser supposer. En cherchant à expliquer les raisons de ce pouvoir antigène, nous avons trouvé d'autres substances qui se comportaient d'une façon analogue.

MISE EN EVIDENCE DU POUVOIR ANTIGENIQUE des EXTRAITS EMBRYONNAIRES

ELABORATION DES ANTICORPS

a) Préparation de l'extrait embryonnaire de poulet

Des oeufs de poule fécondés, pondus depuis moins de IO jours et conservés à une température moyenne de IO à I5°C peuvent être utilisés. Ils sont placés dans un incubateur où l'humidité est environ de 50 à 70% et dont la température oscille entre 38°5 et 39°5 C. Ils sont tournés et aérés régulièrement deux fois par jour. Au bout d'un temps qui a varié suivant les essais de II à I8 jours, les oeufs étaient prêts à fournir les embryons. L'expérience, cependant, nous a montré qu'il était préférable d'utiliser des embryons de II jours.

Le prélèvement est effectué dans un local stérilisé par émission de rayons ultra-violets ou à défaut sous une

hotte en plexiglass. Toutes les opérations sont, d'ailleurs, conduites suivant les règles habituelles de l'aseptie. Les coquilles, une fois lavées à l'alcool, sont cassées avec une sonde et l'embryon saisi avec une pince est mis immédiatement dans une première boîte de Pétri contenant I5 cc de solution de Ringer qui, après stérilisation, se trouve à un pH de 6,5. On débarasse les embryons de leurs membranes et on les porte dans une deuxième boîte de Pétri contenant aussi I5 cc de solution de Ringer afin d'éliminer le plus possible les traces de sang. Les embryons sont mis dans des tubes à centrifuger contenant des billes de verre et agités énergiquement afin d'obtenir une purée de tissus embryonnaires. Les tubes employés avaient une capacité de 45 cc et recevaient au maximum 4 embryons chacun.

On additionne la purée de 5 cc de solution de Ringer par embryon, puis après incubation de I5 minutes à 37° C, on centrifuge I5 minutes à 5000 tours-minute. Le liquide surnageant, après avoir été décanté, est laissé à la glacière à + 2°C et récentrifugé le lendemain. Il est distribué en ampoules. Celles-ci sont conservées à la glacière à une température d'environ -2° C à-5°C .

b) TITRAGE DE L'ANTIGENE

Une ampoule est sacrifiée pour le titrage, qui est fait sans antigène ni sérum de référance, selon la technique de LEPINE et SOHIER (I954).

Pour cela, on choisit le sérum d'un cobaye préalablement injecté avec de l'extrait embryonnaire, à la période où son

sérum doit contenir le maximum d'anticorps: soit 28 jours environ après le début des injections. On prélève 5 cc de sang par ponction cardiaque de ce cobaye. Après une demi-heure de séjour à l'étuve à 37°5C, le caillot est décollé puis laissé à la glacière pendant 3 heures. On centrifuge et on inactive le sérum à 56°C pendant 30 minutes. Ce sérum remplacera le sérum de référence utilisé dans d'autres techniques de titrage.

Le titrage est disposé de la façon suivante : 5 séries de 8 tubes de Kahn sont préparéss. Tous les premiers tubes recevront 0,05 cc de sérum pur. Tous les deuxièmes tubes recevront 0,05 cc de sérum dilué au I/2 avec de l'eau physiologique. Tous les troisièmes tubes recevront 0,05 cc de sérum dilué au I/4 dans de l'eau physiologique et ainsi de suite jusqu'à la dilution au I/I28°.

La première série des 8 tubes sera additionnée d'une quantité fixe d'antigène pur soit : 0,I0 cc.

Dans la deuxième série, les tubes recevront 0,I0 cc d'antigène dilué au I/2 dans de l'eau physiologique.

Dans la troisième série, l'antigène sera dilué au I/4.

Dans la quatrième série, l'antigène sera dilué au I/8.

Dans la cinquième série, l'antigène sera dilué au I/I6.

Les tubes de toutes les séries sont ensuite additionnés de 0,4 cc de complèment titré le jour même en présence de l'antigène et l'ensemble est mis à la glacière pendant I5 heures (température + 2°C).

T A B L E A U N° I

DILUTIONS de l'ANTIGENE	SERUM DE COBAYE DE REFERENCE							
	pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Antigène pur	+	+	+	+	+	+	-	-
Antigène au 1/2	+	+	+	+	+	+	±	-
Antigène au 1/4	+	+	+	+	-	-	-	-
Antigène au 1/8	+	+	-	-	-	-	-	-
Antigène au 1/16	+	-	-	-	-	-	-	-

Un portoir témoin, identique au premier, est fait avec du sérum de cobaye neuf, inactivé.

Le lendemain matin, on ajoute le système hémolytique soit 0,IO cc de sérum anti-mouton au I/400° (R.LAPORTE et HARDRE de LOOZE - I948) et 0,IO cc de globules rouges de mouton à I pour 200. Après un séjour de 30 minutes au bain-marie à 37°C, on lit les résultats :

Les tubes du portoir témoin sont tous hémolysés, tandis que nous avons obtenu régulièrement une fixation totale avec l'antigène dilué au I/2 dans les tubes où la dilution était I pour 32 et partielle dans les tubes à I pour 64.

On choisit la dilution d'antigène qui fixe encore le complèment avec la plus forte dilution de sérum et on emploiera pour les réactions 2 unités d'antigène.

Avec l'antigène embryonnaire préparé simplement comme nous l'avons indiqué, ce fut presque toujours l'antigène dilué à I pour 2 qui répondait aux caractéristiques ci-dessus (Tableau N°I). Dans ce cas, l'antigène était donc ensuite employé pur.

•) <u>ELABORATION DES ANTICORPS in VIVO et révélation par fixation du complèment</u>.

Un lot de I5 cobayes mâles, de poids variant de 300 à 800 grammes, fut divisé en trois groupes.

TABLEAU N° II (1)

	Tube Réaction	Tube témoin Sérum	Tube témoin Antigène	Tube témoin Globules
Sérum à examiner inactivé	I	I	-	-
Antigène titré	II	0	II	-
Eau physiologique à 0,85 %	-	II	I	III
Complément titré à 2 unités par 0,4 cc	0,4	0,4	0,4	0,4
Laisser 15 à 18 heures à + 3° C, puis 30 minutes à 20° C.				
Sérum anti-mouton titré à 1 p.400	II	II	II	II
Globules rouges mouton à 2 %	II	II	II	II
Laisser 1/2 heure à 37° C.				

(1) Dans tous les travaux de sérologie, les quantités en gouttes mesurées au compte-goutte de Duclaux sont figurées en chiffres romains, celles mesurées en cm^3, sont indiquées, au contraire, en chiffres arabes.

Le premier était destiné à servir de témoins.

Le second, à recevoir des injections sous-cutanées à raison de 5 cc d'extrait embryonnaire au rythme de 3 par semaine.

Et enfin, le troisième lot recevait les mêmes quantités d'extrait, mais les cobayes étaient traités par voie intra-péritonéale .

A la 4ème injection, soit 8 jours après le début des injections, une ponction intracardiaque de I cc5 était faite sur tous les animaux y compris les témoins.

Après décollement du caillot et séjour de I2 heures à + 5°C, le sérum était prélevé puis centrifugé et inactivé 30 minutes au bain-marie à 56°C.

Le sérum supposé contenir des anticorps était mis dans une réaction de déviation du complément en présence de l'extrait embryonnaire aqueux titré qui avait été employé pour les injections. La technique employée était celle proposée par JACOBSTHAL (I9IO) et reprise par KOLMER J.A. et BOERNER F. (I94I).(Réaction qualitative à 2 tubes et à doses réduites). (Tableau N°II).

Après la 4ème injection , les résultats que nous obtenions étaient très faiblement positifs .

Les animaux étaient à nouveau chargés et à la 7ème injection, soit I5 jours après le début de la préparation de l'animal, le sérum de cobaye fixait le complément en présence de l'extrait embryonnaire de poulet, tandis que le sérum des témoins restait toujours parfaitement négatif .

Les cobayes chargés par voie sous-cutanée donnèrent des résultats beaucoup plus forts que ceux qui avaient été traités par voie intrapéritoneale. En utilisant la voie sous-cutanée, on constatait ensuite une fixation complète jusqu'à la dilution au I/2 du sérum, tandis qu'en se servant de la voie péritonéale, la fixation ne dépassait pas le premier tube réaction (sérum pur).

Pour essayer d'avoir des sérums plus riches en anticorps, nous avons continué les injections de 5 cc d'antigène par voie sous-cutanée et 5 cc par voie péritonéale au rythme de 3 fois par semaine. A la IOème injection, une petite prise de sang de I cc 5 fût faite aux cobayes témoins et aux cobayes chargés.

Les sérums des témoins ne fixèrent jamais le complèment. Les cobayes injectés par voie sous-cutanée fournirent un sérum qui fixa le complèment jusque dans la dilution à I pour 64, tandis que ceux qui avaient été injectés par voie péritonéale ne dépassaient pas la dilution de I pour 8.

Huit jours après l'arrêt des injections, on pouvait encore constater la persistance des anticorps, mais leur taux était tombé à I pour 4. Cette persistance devait d'ailleurs aller en s'affaiblissant : réaction positive avec le sérum dilué à I pour 2 au bout de 6 semaines, parfois même, seul, le tube contenant le sérum pur possédait encore des anticorps et la réaction finissait par disparaître entièrement au bout de 2 mois.

Nous pouvons donc affirmer que l'extrait d'embryon de poulet se comporte bien comme un antigène : les anticorps apparaissent faiblement dès le 8ème jour, pour atteindre leur maximum entre le I7ème et le 28 ème jour. On peut en déceler la présence par une fixation du complèment.

Pour retrouver ensuite les anticorps dans le sérum des cobayes, il est nécessaire de faire 2 ou 3 injections de rappel suivant les cas. Ces injections sont faites en ayant soin de désensibiliser l'animal auparavant : à II heures, le cobaye reçoit I cc d'extrait embryonnaire dilué au I/200°. A II h.30, il reçoit I cc d'extrait embryonnaire au I/20°. A I7 heures, il reçoit 5 cc d'extrait embryonnaire total de poulet. 48 heures après, on décèle par la réaction de Kolmer les anticorps apparus dans le sérum de cobaye. On les observe, d'abord, jusque dans la dilution au I/4 du sérum. Après un temps qui varie suivant l'animal de 8 à IO jours, c'est-à-dire, le délai de 3 ou 4 injections, nous retrouvons des anticorps jusque dans les dilutions à I pour 64 du sérum.

La même expérience fut pratiquée sur des rats mâles de 300 grammes environ. La dose injectée fut de 2 cc et les techniques de préparation des animaux furent les mêmes. Le prélèvement du sang fut fait, sous anesthésie à l'éther, par ponction cardiaque de I cc. Comme pour les cobayes, l'apparition des anticorps fut constatée à la 4ème injection, mais n'était vraiment décelable par une reaction nettement positive qu'à la 6ème et même à la 7ème injection.

Pour les rats et les lapins, nous devons signaler, cependant , une difficulté supplémentaire : leurs sérums sont

T A B L E A U N° III

	Tubes réaction			Tubes témoin sérum.			Tubes témoin antigène.			Tubes témoin globules rouges.
Eau physiologique à 0,85 %	III	II	I	IV	III	II	IV	III	II	VII
Sérum à examiner chauffé 30' à 56°C	I	I	I	I	I	I	-	-	-	-
Antigène titré	I	I	I	-	-	-	I	I	I	-
Complément titré	I	II	III	I	II	III	I	II	III	-
Réaction laissée 45 minutes sur table										
Sérum anti-mouton titré à 1/200°	I	I	I	I	I	I	I	I	I	-
Globules rouges de mouton à 1%	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III
Porter les tubes 30 minutes au bain-marie à 37° C.										

très souvent anti-complèmentaires. Il est absolument nécessaire de déceler, alors, les anticorps par la réaction de Calmette-Massol, afin de surmonter ce pouvoir anti-complémentaire. (Tableau N°III).

Le sérum des rats et des lapins ne fixa le complément que dans un seul tube. Nous attribuons cette différence avec le cobaye à la méthode employée, la reaction de Calmette-Massol étant moins sensible que la réaction de Kolmer.

d) REVELATION DES ANTICORPS PAR FLOCULATION.

L'extrait embryonnaire de poulet dont nous nous sommes servi se comportant bien comme un antigène, il doit être possible de rechercher des anticorps correspondants, non seulement par une reaction de fixation du complément comme nous venons de le faire (§ c ci-dessus), mais aussi par une réaction de floculation.

Nous nous sommes inspirés, pour cela, de la technique proposée par LAZARUS A.S. et MAYER K.F. (1939).

Tout d'abord, on centrifuge à 5000 tours-minute l'extrait embryonnaire qui servira d'antigène, afin d'obtenir un liquide parfaitement clair. On prépare 3 séries de 8 tubes de Kahn. Une série est destinée au sérum à examiner. Le sérum était, dans notre essai, celui des cobayes qui avait reçu, comme nous l'avons indiqué précédemment, des injections d'extrait embryonnaire de poulet.

Une autre serie est destinee à recevoir un sérum normal. La troisième série est destinée à ne contenir que de l'eau physiologique. Les deux dernières séries servent de témoins de la première.

Chaque tube reçoit 0,25 cc d'antigène et 0,25 cc de sérum à examiner.

Le sérum est mis pur dans le Ier tube; dilué au I/2 dans le deuxième; ensuite, au I/4 et ainsi de suite jusqu'à I/I28.

Pour le témoin eau physiologique, il suffira de préparer 2 tubes seulement, puisqu'il n'y aura pas de dilution possible.

Les tubes sont portés au bain-marie à 50°C. On ajoute ensuite 2 cc d'eau physiologique dans tous les tubes et on les place à l'étuve ou au bain-marie à 37°C pendant I5 heures. On lit les résultats le lendemain à l'aide d'un miroir concave.

Nous avons obtenu une magnifique floculation dans le tube où le sérum était à l'état pur; une floculation positive dans le tube où le serum était dilué au I/2; on lisait encore une floculation positive dans le tube du sérum dilué au I/4; ensuite, la floculation n'était plus perceptible. Bien entendu, il n'a été aperçu aucune floculation dans les tubes-témoins de la réaction.

La réaction de floculation, quoique extrêmement nette, nous a paru être moins sensible que les réactions d'hémolyse

puisque nous ne pouvions déceler les anticorps que dans trois tubes au lieu de six.

Aussi, pour l'exécution de notre travail, avons-nous choisi les réactions de Kolmer ou de Calmette-Massol, en vue des recherches sur les anticorps dans les sérums.

X

X X

Cette expérience initiale de conception tout-à-fait classique nous fournit une base sûre de travail. L'extrait embryonnaire de poulet, comme du reste il fallait s'y attendre, constitue un véritable antigène (ou même un mélange de fractions antigéniques) capable, non seulement, de révéler les anticorps correspondants, mais aussi, injecté dans un organisme, d'y provoquer la formation d'anticorps spécifiques. On peut rechercher ces derniers aussi bien par précipitation que par fixation du complèment.

Puisque cette substance peut faire apparaître, en tant qu'antigène vrai, des anticorps dans le sérum d'animaux qui n'en comportaient pas auparavant, il est tout-à-fait logique de l'utiliser aussi pour réveler les anticorps correspondants qui peuvent se trouver dans certains sérums et que l'on peut donc qualifier de normaux ou de naturels, puisqu'ils préexistent sans que ces organismes aient jamais reçu d'injections de cet antigène particulier.

Nous avons jugé utile d'essayer de supposer auparavant les raisons qui rendaient antigénique l'extrait embryonnaire de poulet, et de le comparer à des antigènes déjà longuement décrits et étudiés (FORSSMAN notamment) et à d'autres produits analogues tirés d'autres organes (thymus, testicule, etc.....).

Hypothèses de travail.

Dans nos publications faites antérieurement avec MATTAN-LARRIER, nous n'avions interprété les réactions sérologiques positives observées avec certains sérums humains ou d'animaux que comme caractéristiques de la présence d'une sensibilisatrice uniquement et spéficiquement "anti-embryonnaire".

Or, il parait, peut-être, plus fecond comme hypothèse de travail de ne considérer l'embryon de poulet que comme un élèment remarquablement riche en cellules en multiplications rapides et nombreuses. Les reponses sérologiques obtenues perdront alors de leur spéficité, pour gagner en ampleur d'interprétation.

Cette théorie peut s'appuyer sur le fait que lors de la division cellulaire, il se produit un remaniement profond des constituants notamment de ceux du noyau. L'azote nucléoprotéique, en particulier, est très abondant, dans les tissus qui présentent de nombreuses mitoses et, dans les cellules jeunes, le rapport nucléoplasmatique est fort different de celui des cellules âgées. Il s'ensuit que dans un organe, où les multiplications sont particulièrement abondantes, la

modification physicochimique est tellement importante qu'elle doit forcèment, à partir d'une certaine valeur, influencer le pouvoir antigénique de l'organe envisagé. D'autre part, un organisme aussi complexe que celui d'un mammifère constitue bien un assemblage d'organes; mais en dehors des mécanismes régulateurs d'ensemble, une certaine autonomie doit être conservée, comme en témoignent suffisamment leurs croissances relatives tant pendant la vie embryonnaire qu'après la naissance. Il n'est donc pas impossible qu'une poussée cytopoïétique puissante d'un organe ou d'une région particulière aboutissant à une composition chimique donnée, fasse apparaître des anticorps qu'il sera possible de revéler par une réaction sérologique utilisant un antigène convenable, extrait embryonnaire, notamment.

Si cette hypothèse est exacte, on doit retrouver le même pouvoir antigénique dans différents tissus embryonnaires appartenant à des espèces différentes, et, dans la mesure où ce pouvoir est lié à une cytopoïese importante, dans d'autres organes ou tissus dans lesquels les mitoses sont abondantes : thymus des jeunes animaux, testicules des mâles, cultures de tissus etc.....Corrélativement, les anticorps apparaitront dans la plupart des organismes, lors d'une poussée cellulaire importante.

C'est l'ensemble de ces considérations que nous allons essayer de démontrer comme valables en les étayant sur de nombreuses observations.

NOTATION DES ANTIGENES -

Les antigènes que nous avons utilisés et étudiés étant assez nombreux et variés, pour faciliter l'exposé, nous les avons classés et numérotés en chiffres romains.

N°I : Extrait embryonnaire total de Poulet.
N°II : Extrait embryonnaire total de Bovin.
N°III : Extrait embryonnaire total de souris.
N°IV : Extrait embryonnaire total de rat.
N°V : Extrait embryonnaire total de cobaye.
N°VI : Extrait de thymus de veau.
N°VII : Extrait de testicule de taureau.
N°VII bis: Extrait de testicule de Bélier.
N°VIII : Extrait de tissus de souris adulte.
N°IX : Extrait de tissus de rats adultes.
N°X : Extrait de tissus de Bovins adultes.
N°XI : Extrait de tissus de cobayes adultes.
N°XII : Extrait de culture de fibroblastes (coeur d'embryons de poulets).

Les chiffres romains seront suivies du nom de l'organe étudié pour chaque espèce.

L'exposant 2 est l'indication d'un antigène précipité par l'acide acétique : exemple Antigène I_2 est constitué par de l'extrait embryonnaire précipité par l'acide acétique. Il en sera de même pour tous nos antigènes.

CHAPITRE II

ETUDE COMPAREE DES ANTIGENES ADOPTES et des ANTIGENES dits de "FORSSMAN"

La répartition de l'antigène F (ou de FORSSMAN) chez les différents animaux est, d'après certains auteurs, le fait du hasard.

Présent chez le cobaye, les félidés (LANDSTEINER I924 a) le poulet, absent chez le lapin, le rat, l'antigène F se retrouve chez des espèces très éloignées les unes des autres. Il est très répandu dans la nature et se localise dans certains organnes. SCHIFF et ADELBERGER (I924), SCHIFF et FRIEDBERGER (I9I3), DUJARRIC de la RIVIERE et N.KOSSOVICH (I937) ont montré que les globules rouges humains appartenant au groupe sanguin A et AB possèdent l'antigène F, tandis que ceux appartenant aux groupes O et B en sont dépourvus.

En dehors de l'homme, différents animaux sont classés dans le groupe "cobaye"possesseur de l'antigène F, par exemple :

Mammifères : Bélier (spermatozoïdes), Chameau (musole),
: Chat (organes, globules rouges), Cheval (organes,
: sérum sanguin), Chèvres (organes, serum, pla-
: quettes sanguines), Chien (organes,

: globules rouges), Cobaye et Hamster (organes),
: Mouton (globules rouges), Souris (rein, muscles,
: cerveau, foie,poumons).

Oiseaux : Faisan argenté (organes), Pigeon (organes),
: Poulet (organes, globules rouges)

Poissons : Anguille, Brochet (oeufs), Carpe (oeufs),
: Tanche (oeufs).

Dans le groupe "lapin", dépourvu de l'antigène F, on trouve : le boeuf, le cerf, le chevreuil, le chimpanzé, le lapin, le porc, le rat, l'épervier, le hibou, l'oie, la grenouille, le hareng. Seuls, en principe, les sujets de ce groupe peuvent renfermer l'anticorps correspondant. On a établi, cependant, chez le chien que l'antigène et l'anticorps F pourraient coexister.

Lorsque l'antigène de Forssman est présent dans l'organisme, il peut être localisé dans divers tissus, ainsi chez le cobaye, le cheval, le chien, on le trouve surtout dans les reins et dans le foie.

Chez le mouton et la chèvre, on ne le rencontre que dans les globules rouges. D'une façon générale, on peut dire que les reins et le poumon sont les organes les plus riches en antigène F; puis, viennent les testicules, la rate, le coeur et les muscles. Le cerveau en contient peu, le cervelet et le sérum presque pas.

En règle générale, sauf pour le poussin, lorsque l'antigène F est présent dans les tissus d'un animal, il

manque dans ses globules rouges et inversement.

Le poulet renfermant dans ses tissus l'antigène de Forssman, il était évident que la première precaution à prendre au cours de notre travail était de vérifier que ce n'était pas cet antigène hétérophile qui intervenait dans nos réactions et produisait des réactions avec les seuls sérums sanguins qui contenaient l'hétéro-anticorps.

Nous nous sommes aperçue que le sérum de nombreux animaux qui possèdent l'antigène F (bélier, chèvre, souris) déviait le complèment, sous certaines conditions, en présence de l'extrait embryonnaire de poulet. Ne pouvant posséder à la fois l'antigène et l'anticorps, il fallait bien penser à la présence d'un anticorps différent de celui de Forssman.

Pour obtenir des preuves définitives en cette matière, nous avons procédé à diverses vérifications.

I°) <u>En choisissant notre antigène dans le groupe "Lapin"</u> (c'est-à-dire dans le groupe qui contient toujours les anticorps Forssman et non l'antigène).
A cet effet, nous avons pris :

- Un foetus de bovin de 2 mois environ
- Un thymusde veau (de 8 jours à 3 mois environ)
- Enfin, un testicule de taureau.

Tous ces organes, bien que provenant d'animaux classés dans le groupe "anticorps Forssman", <u>ont pu nous servir d'antigène</u>, comme nous le verrons plus loin (chapitre V), pour révéler les mêmes anticorps que l'extrait d'embryon de poulet.

Le cerveau, enfin, peut dans certaines conditions servir également d'antigène. Or, il est toujours dépourvu d'antigène F.

2°) En faisant une saturation : Des sérums humains appartenant aux groupes sanguins B et O nous donnèrent la réaction de fixation du complèment en présence d'extrait embryonnaire de poulet.

Ces sérums, par définition, contiennent des anticorps Forssman. Pour différencier notre réaction, il fallait donc éliminer les anticorps Forssman et voir si, après leur disparition, notre reaction était toujours positive.

Nous avons choisi :
- 2 sérums d'hommes de 25 à 24 ans appartenant respectivement aux groupes B et O.
- I sérum d'enfant de 8 ans du groupe B
- 2 sérums de femmes enceintes de 26 et 33 ans du groupe B
- 2 sérums de femmes enceintes de 23 et 34 ans du groupe O

D'autre part, nous avons preparé selon la technique de PAUL et BUNELL (I932) de la pulpe de rein de cobaye, (riche en antigène de Forssman).

Une première série de tube fut préparée avec 2 cc de chacun des sérums qui furent additionnés du même volume de pulpe de rein de cobaye. Après un mélange soigneux, on laissa en contact IO minutes.

Une deuxième série, établie comme la première, fut laissée en contact 20 minutes.

Enfin, une troisième série fut laissée en contact 30 minutes.

Après ces temps de contact, les tubes furent centrifugés. On préleva 0,5 cc de sérum décanté en vue de la réaction de KOLMER. Le reste des sérums était mis , une deuxième fois, en présence de la pulpe de rein de cobaye. Après un temps de contact de 24 heures, on centrifugea à nouveau et une partie du sérum était mise de côté pour établir notre réaction. La même expérience fut, enfin, répétée après un contact de 48 heures avec l'antigène de FORSSMAN.

Nous avons ainsi obtenu 5 séries de sérums ayant eu des contacts plus ou moins longs avec la pulpe de reins de cobaye (10 minutes, 20 minutes, 30 minutes, 24 heures et 48 heures.)

Nous avons, à partir d'eux, réalisé une réaction de KOLMER double.

Dans la première réaction, l'antigène était constitué par un extrait embryonnaire de poulet, tandis que dans la seconde, on employait un antigène de FORSSMAN dont la technique de préparation, nous a été fournie par Melle FAURE, Chef de service à l'Institut PASTEUR, que nous remercions bien vivement de son obligeance. (1)

---

(1) Préparation de l'antigène FORSSMAN

Cette extraction est faite sur les phosphatide du rein de cheval.

50 grammes de rein frais sont lavés 2 fois à l'acétone, puis précipités avec de l'alcool tiède à 70°. On laisse 24 heures au repos et on répète encore deux fois l'opération.

Après centrifigation, on filtre puis on évapore à sec l'extrait alcoolique. Le résidu est dissous dans l'éther, on élimine l'insoluble et on précipite les phosphatides par 3 volumes d'acétone. On centrifuge, on jette l'acétone et on remet en suspension le culot dans un volume égal d'acétone et de glycérine pour faciliter la conservation. Au moment de l'emploi, cet antigène est dilué 10 fois.

T A B L E A U N° IV : Saturation des Anticorps FORSSMAN

Nature des Sérums	Groupe Sanguin	Temps contact avec Antigène F	ANTIGENES : Extrait embryonnaire de Poulet.	ANTIGENES : FORSSMAN
1 sérum d'un jeune homme de 24 ans	B	10 minutes	+	+
		20 minutes	+	-
		30 minutes	+	-
		24 heures	+	-
		48 heures	+	-
1 sérum d'un jeune homme de 25 ans	O	10 minutes	+	-
		20 minutes	+	-
		30 minutes	+	-
		24 heures	+	-
		48 heures	+	-
1 sérum d'un enfant de 8 ans	B	10 minutes	+	+
		20 minutes	+	+
		30 minutes	+	-
		24 heures	+	-
		48 heures	+	-
1 sérum de femme enceinte de 26 ans	B	10 minutes	+	-
		20 minutes	+	-
		30 minutes	+	-
		24 heures	+	-
		48 heures	+	-
1 sérum de femme enceinte de 33 ans	B	10 minutes	+	+
		20 minutes	+	+
		30 minutes	+	-
		24 heures	+	-
		48 heures	AC	AC
1 sérum de femme enceinte de 23 ans	O	10 minutes	+	+
		20 minutes	+	-
		30 minutes	+	-
		24 heures	+	-
		48 heures	+	-
1 sérum de femme enceinte de 34 ans	O	10 minutes	+	±
		20 minutes	+	-
		30 minutes	+	-
		24 heures	+	-
		48 heures	AC	AC

TABLEAU N° V

NATURE DES SERUMS	AGE	Groupe sanguin	Antigène à l'extrait embryonnaire de poulet. N°1	Antigène à l'extrait embryonnaire de poulet. N° I_2	Antigène FORSSMAN
Sérums Normaux			N°1	N° I_2	
D... N° 1	66 ans	A	−	−	−
J... N° 2	79 −	A	−	−	−
B... N° 3	8 −	B	+ +	+ +	+
L... N° 4	74 −	A	−	−	−
L... N° 5	74 −	0	−	−	+
D... N° 6	77 −	A	−	−	−
P... N° 7	25 −	B	+	+	+ +
J... N° 8	24 −	0	+	+	+ +
B... N° 9	33 −	A	+	+	−
G... N°10	50 −	A	−	−	−
G... N°11	73 −	A	−	−	−
J... N°12	30 −	A	+++	+++	−
Sérums Cancéreux					
Sarcome du fémur		A	±	±	−
Epithélioma de la lèvre		A	+	+	−
Cancer du larynx		A	+++	+++	+
Cancer de la luette		A	+	+	+
Epithelioma du rectum		A	+ +	+ +	−
Epithelioma de la paroi abdominale	73 ans	A	+++	+++	−
Epithelioma du col utérin	60 −	A	+ +	+ +	−
Epithelioma cutané de la face	79 −	0	+ +	+ +	+
Epithelioma du sein	63 −	A	+ +	+ +	−
Epithelioma du col utérin	73 −	A	+++	+++	−
Epithelioma du col utérin	67 −	A	+++	+++	−
Epithelioma du col utérin	65 −	A	+ +	+ +	−
Epithelioma du col utérin	44 ans	A	+++	+++	−
Epithelioma du col utérin	55 −	A	+	+	−

TABLEAU N° V bis

Nature des Sérums Femmes enceintes.	AGE grossesse	AGE individu	Groupe sanguin	Antigène à l'extrait embryonnaire de Poulet. N°1 et I2		Antigène FORSSMAN
				N° 1	N° I 2	
A... mère	Terme	30 ans	A	+	+	-
cordon	-		A	-	-	-
B... mère	Terme	25 ans	0	+	+	+
cordon	-		0	-	-	+
L...		25 ans	A	++	++	-
D...		25 ans	0	+	+	-
V...		22 ans	A	+	+	-
B...		27 ans	A	+++	+++	-
M...			A	+	+	-
L...			A	+	+	-
W... mère	Terme		0	+	+	+
cordon	-		0	+	+	+
D... mère	Terme		0	++	++	+
cordon	-		0	++	++	+
R...	3 mois 1/2		A	++	++	-
P...	4 mois	34 ans	0	+	+	++
G...	6 mois	26 ans	B	+	+	++
G...	4 mois	33 ans	B	+	+	++
P...	4 mois	25 ans	A	+	+	-
L...	3 mois	24 ans	A	++	++	-
L...	4 mois	32 ans	A	++	++	-
P...	3 mois 1/2	23 ans	0	++	++	++
G...			A	++	++	-
L...	3 mois		B	++	++	+
V...	8 mois		0	±	±	+
A...	4 mois		0	±	±	+
L... mère	Terme		0	-	-	+
cordon	-		0	-	-	+
P... mère	Terme		A	+	+	-
cordon	-		0	+	+	+
S... mère	Terme		A	+	+	-
cordon	-		0	+	+	+
L...	4 mois 1/2		A	+	+	-
M...	4 mois		A	+	+	-
G...	4 mois		AB	++	++	-
C...	4 mois		0	+	+	+
D...	4 mois		0	±	±	+
L...	3 mois		0	±	±	+
G...	5 mois		A	+	+	-
C... mère	Terme		AB	+	+	-
cordon	-		0	-	-	-
H... mère	Terme		B	+	+	+
cordon	-		0	±	±	+
H... mère	Terme		0	++	++	+
cordon	-		0	±	±	+
J... mère	Terme		A	±	±	-
cordon	-		A	-	-	-
B...	Terme		A	±	±	-
L...	4 mois		A	+	+	-

même titre que ceux appartenant aux groupes B et O.

L'expérience suivante a été réalisée :

Des sérums de gens normaux appartenant aux groupes A et AB ont été examinés en présence de l'antigène I.

Comme dans l'expérience précédente décrite page 29, nous avons fait varier l'origine de ces sérums en prenant soit des sérums d'enfants, soit des sérums d'adultes, soit enfin de vieillards ou même de femmes enceintes, pour lesquels nous avons établi les tableaux V et V bis.

Dans ces sérums, nous avons pu déceler, très souvent, des anticorps et lorsqu'il y avait une fixation du complèment, les réactions étaient tout aussi nettement positives que pour les sérums des groupes B et O.

Puisque les groupes A et AB ne contiennent pas d'anticorps F, c'est donc bien qu'il s'agit d'un autre anticorps. Les groupes A et AB étant porteurs de l'antigène Forssman, il paraît peu probable qu'il y ait une réaction antigène-antigène. La présence des anticorps ne semble donc avoir aucun rapport avec la nature du groupe sanguin.

4°) <u>En provoquant chez le cobaye la formation d'anticorps correspondant à l'antigène injecté.</u>

Le cobaye est le type des animaux porteurs de l'antigène hétérophile. La possibilité de production d'anticorps spécifiques par injection d'extraits embryonnaires de poulet,

comme nous l'avons établi précédemment (page I4), prouve bien que cet extrait renferme un antigène différent de celui de Forssman. Autrement, rien n'eut sûrement été obtenu.

5°) En contrôlant la thermostabilité des antigènes que nous avons choisis.

Les antigènes que nous utilisons ne sont pas thermostables comme l'antigène de Forssman. Ce dernier conserve ses propriétés antigéniques après un chauffage de 6 à 8 heures à I34° C (DOERR et PICK I926). Même GUTFELD (I922) avait affirmé pouvoir encore le retrouver après un chauffage à 200°C. Au contraire, l'action antigénique de l'extrait embryonnaire de poulet est detruite après chauffage à I00°C pendant I/2 heure.

X

X X

En conclusion, bien que le poulet renferme l'antigène hétérophile de Forssman, par toute une série d'expériences, nous avons pu démontrer que l'extrait embryonnaire dans nos réactions révélait un anticorps qui est totalement différent de l'anticorps de Forssman et dont on peut donc affirmer ainsi l'individualité.

CHAPITRE III

ETUDE DE L'ANTIGENE I
SON FRACTIONNEMENT

I°) Préparation d'un antigène aqueux

La préparation de l'antigène en vue des réactions de sérologie est effectuée selon la technique que nous avons précédemment indiquée au chapitre I page 11.

a) Résistance au gel

Cet antigène se conserve très bien à l'état congelé. Cependant, un antigène datant de 3 mois est moins actif qu'un antigène très frais. Une semaine de vieillissement environ est parfaitement bien tolérée.

Chaque fois que nous avons eu à étudier un antigène nouveau ou bien à en examiner son degré d'activité, nous l'avons titré en présence d'un sérum de référence, qui est, comme nous l'avons dit au chapitre précédent, un sérum de cobaye chargé d'anticorps obtenu après injection sous-cutanée de l'antigène embryonnaire de poulet (N°I) à l'animal.

La chute d'activité de l'antigène par suite du vieillissement est facile à démontrer : si, sur un sérum de référence, on décèle les anticorps jusque dans les dilutions de I pour 64

avec un antigène frais, on n'arrivera à mettre ces mêmes anticorps en évidence que jusqu'à la dilution du I/32 au bout de 2I jours de conservation de l'antigène et au I/8 au bout de 3 mois.

Cette constatation nous a obligée à faire un roulement de préparation de l'antigène et nous a empêchée de faire des stocks d'avance, ce qui, évidemment, faciliterait le travail. Au lieu d'incuber I2 à 24 oeufs, nous mettions 4 oeufs tous les trois jours afin d'avoir un antigène par semaine ayant le maximum d'activité.

b) Résistance à la chaleur

Dans une deuxième série d'expériences, nous avons précipité l'antigène en le chauffant à l'ébullition.

D'après P.THOMAS, la partie coagulée contiendrait la fraction protéine + α nucléoprotéine.
Le filtrat contiendrait les β nucléoprotéines.

La première partie fut broyée avec du liquide de Ringer et ramenée au volume initial : son pouvoir antigenique etait considérablement affaibli, sinon pratiquement nul. Des sérums très riches en anticorps donnant une déviation jusqu'au I/8 ne donnaient plus qu'une déviation douteuse dans le tube de serum pur; le filtrat se montra complètement inactif.

Les qualités antigéniques de notre extrait embryonnaire étaient donc détruites par la chaleur. On était en droit de

supposer, étant donné les traces d'activité décelées dans la partie coagulée, que notre antigène était plutôt contenu dans les α nucléoprotéines, mais il ne nous était cependant pas permis de l'affirmer. Pour éclaircir ce point, nous avons entrepris un essai de fractionnement différent du précédent.

II° - Essai de fractionnement

a) Préparation d'un antigène précipité par l'acide acétique

Nos expériences précédentes qui nous avaient permis de provoquer la formation d'anticorps en injectant à un cobaye un extrait embryonnaire de poulet nous avaient autorisée à affirmer que nous avions à faire à un véritable antigène et non à un simple haptène.

En effet, les haptènes peuvent donner in vitro des réactions d'immunologie (précipitation, floculation, fixation du complèment) tout en étant dépourvus de cette fonction capitale qui est de développer des anticorps chez les animaux auxquels ils sont injectés. Ce fait resta sans explication valable jusqu'au jour où LANDSTEINER en 1921, LANDSTEINER et SIMMS (1923) firent connaître leur théorie des antigènes incomplets.

C'est à LANDSTEINER que revient le mérite d'avoir montré qu'il est possible de transformer un haptène en antigène complet. Pour opérer cette transformation, LANDSTEINER a, dans ses premières expériences, mélangé de l'extrait alcooli-

que de rein de cheval avec du sérum de porc. Bien que ni l'une ni l'autre de ces substances ne soit capable, à elle seule, de provoquer l'élaboration d'anticorps, le mélange injecté à un lapin donne un anticorps FORSSMAN.

L'injection simultanée de ces deux substances faite en deux points différents de l'organisme ne provoque pas l'apparition de l'anticorps F. Le mélange préalable est indispensable (LANDSTEINER 1921-1922 e).

Restait à savoir, dans notre cas, quelle fraction était active dans notre extrait.

a) Nous avons, tout d'abord, précipité notre antigène aqueux par de l'acide acetique au I/IO, jusqu'à obtention du pH 4,4.

Après centrifugation, le précipité était remis en solution par addition progressive de liquide de Ringer jusqu'au volume initial. Le pH était ramené au pH normal de l'extrait embryonnaire aqueux (pH environ 6,5 - 6,8).

De même, le liquide surnageant était récolté et ramené au pH initial, à l'aide de soude N/IO.

Les substances précipitables par l'acide acétique se dissolvant dans un liquide alcalin sont des α nucléoprotéides constituants du noyau cellulaire et extractibles à froid.

Ce nouvel antigène fut mis en présence d'un sérum positif.

TABLEAU N° VI

Tableau comparatif des sérums mis en présence des antigènes I I_2 I_5

	Antigène I					Antigène I_2					Antigène I_5					Antigène I5 vieilli 1 mois
Normaux	pur	1/2	1/4	1/8	1/16	pur	1/2	1/4	1/8	1/16	pur	1/2	1/4	1/8	1/16	
1 B... 27 ans ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2 J... 33 ans ♂	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	±	-	-	-	-	
3 D... 42 ans ♀	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	
4 G... 52 ans ♀	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5 B... ♀	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	
6 R... 20 ans ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
7 M... 25 ans ♂	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
8 M... 23 ans ♂	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
9 T... 53 ans ♂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
10 P... 25 ans ♂	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
11 J... 24 ans ♂	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	
12 B... 33 ans ♂	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
Femmes enceintes																
1 C...19 ans 4 mois	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
2 B...23 ans 6 -	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
3 G...26 ans 3 -	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
4 CH..33 ans 3 -	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
5 G...28 ans 3 -	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
6 L...30 ans 4 -	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-
7 T...20 ans 4 -	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
8 CH..28 ans 3 -	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	
9 M...18 ans 3 -	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	
10E...31 ans 4 -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11B...23 ans 3 -	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	
12R...28 ans 5 -	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	
13P...34 ans	+	-	-	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	
14G...28 ans 6 -	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
15G...33 ans 4 -	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
16L...24 ans 3 -	+	-	-	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	
17L...32 ans 4 -	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
18P...23 ans 3 1/2	+	+	+	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	
19G...22 ans	+	+	+	-	-	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	

Antigène I - Extrait embryonnaire total aqueux.
- I_2 - Extrait embryonnaire total précipité par l'acide acétique.
- I_5 - Extrait ambryonnaire préparé selon Casals.

Il se montra très actif et donna presque toujours des résultats absolument pareils à ceux obtenus avec notre antigène I.

Prenons, par exemple, des serums positifs de femmes en cours de gestation et voyons les resultats obtenus.

Des femmes enceintes de 3,4,5 et 6 mois, dont le sérum sanguin donnait une fixation du complèment jusque dans les tubes où le sérum était dilué au I/4, dévient également le complèment en présence d'antigène précipité par l'acide acétique. Un sérum de femme enceinte de 4 mois, qui était très fortement positif en présence de l'extrait total (au I/I6e), resta sensible (au I/I6e) avec l'antigène précipité par l'acide acétique.

D'autres,qui ne donnèrent qu'une déviation dans un seul tube, présentèrent le même resultat avec la fraction précipitée; parfois, mais très rarement, nous obtenions,au contraire, une réaction plus faible dans le dosage quantitatif. Une femme, dont le sérum était positif jusque dans la dilution au I/2 avec l'extrait frais aqueux ne le fut plus que dans le tube renfermant du sérum pur avec l'extrait précipité par l'acide acétique (voir tableau n°VI).

Nous attribuons ce flechissement d'activité à la préparation de l'antigène précipité par l'acide acétique. Nous insistons pour signaler qu'il faut absolument ramener au pH initial sans jamais dépasser le point critique. Sans cela, on obtiendrait une grosse floculation et il est alors impossible de remettre en solution les protéines dénaturées par

l'excès d'acide.

Sur des sérums normaux, trouvés positifs avec l'antigène I aqueux, les résultats furent également absolument analogues avec de l'extrait précipité par l'acide acétique.

Notons que la conservation de l'antigène précipité ne peut dépasser 24 heures. Après ce laps de temps, la solution n'a presque plus de pouvoir antigénique; les protéines sont probablement un peu dégradées par l'acide acétique, et cette destruction s'accroît rapidement au cours du vieillissement.

Nous nous sommes ensuite demandée si la partie active était bien seulement contenue dans le précipité. Pour en être sûre, nous avons pris comme antigène le liquide surnageant après centrifugation, qui était également ramené au pH 6,6/ 6,8. Nous n'avons jamais obtenu de fixation du complément pour aucun des sérums positifs connus avec l'extrait total et essayés en présence de ce liquide pris comme antigène.

b) Préparation d'un antigène précipité par l'alcool acétifié

Dans une deuxième série d'expériences, l'extrait embryonnaire aqueux de poulet fut précipité par l'alcool acétifié. Cette méthode est dérivée de celle indiquée par BORDAS et TOUPLAIN (1907) pour le dosage de la caséine dans le lait. Elle avait pour but de démontrer que, seule, la partie protéinique était active, les lipides étant par ce procédé éliminés grâce à leur solubilité dans l'éther.

Par la précipitation avec l'acide acétique seul, il n'était pas impossible, en effet, que des lipides restassent fixés sur les protides et fussent entraînés avec eux.

Méthode - Dans un tube à centrifuger, on verse 20 cc d'alcool à 65° acétifié au 1/1000è par l'acide acétique. Puis, on verse goutte à goutte 10 cc d'extrait embryonnaire aqueux de poulet.

On centrifuge I2 minutes à 2.500 tours. Après décantation, on verse de l'alcool à 55° jusqu'à 2 cm du bord. On désagrège le coagulum avec un agitateur.

Après 5 minutes de contact, on centrifuge I0 minutes puis on décante.

On verse 7 à 8 cc d'alcool à 95°. On agite. Au bout de 3 minutes, on met de l'éther jusqu'à environ 2 cm du bord.

On laisse en contact 10 minutes, en agitant de temps en temps. On centrifuge 5 minutes, puis on décante. On remet de l'éther et on laisse en contact 7 minutes. On agite, puis on centrifuge et on décante à nouveau.

Le résidu est broyé et repris par du liquide de Ringer et on ramène au volume initial.

Comme pour l'extrait précédent, le pouvoir antigénique de la fraction précipitée n'est pas diminué, mais on ne peut conserver cet antigène.

En revanche, le premier liquide surnageant après précipitation par l'alcool acétifié n'a jamais pu, mis en présence d'un sérum riche en anticorps nous donner une fixation du complèment.

Après 24 heures,le pouvoir de la fraction précipitée faiblit fortement. Comme cette dernière forme d'antigène ne présente pas d'avantage particulier, nous avons opté dans la pratique pour l'antigène précipité extemporanèment avec l'acide acétique dont la préparation est beaucoup plus rapide. C'est cette fraction precipitée qui nous servira, sauf indication contraire, au cours de tous nos essais ultérieurs.

III - Préparation d'antigènes secs

a) Préparation de l'antigène par séchage sous vide sans lyophilisation

(Méthode G. BARSKI, J. MAURIN, G.WIELGOSZ, P. LEPINE)

La pulpe embryonnaire de poulet est extraite avec de l'eau bi-distillée à raison de 2 cc d'eau par embryon de 11 jours. Après centrifugation de 10 minutes à 5.000 tours, le liquide surnageant est desséché dans un dessicateur à vide et à la température de 20°C environ. L'extrait desséché et éventuellement délipidé est repris par 1 cc de liquide de Ringer par embryon, puis centrifugé 15 minutes à 5.000 tours-minute.

La délipidation des extraits embryonnaires est effectuée sur un matériel lyophilisé ou desséché. Le recipient contenant l'extrait deséche est agité avec un excès de solvant

(benzène) pendant 15 minutes à +6°C. On change le solvant 3 fois. Le benzène est ensuite éliminé par insufflation d'air stérile pendant 30 minutes et ensuite par évaporation dans un dessicateur sous vide, pendant 18 à 20 heures en présence de chlorure de calcium anhydre et de charbon activé.

La poudre ainsi obtenue est reprise par du liquide de Ringer à raison de 5 cc par embryon mis en oeuvre. Après avoir obtenu un mélange homogène par un leger broyage, on centrifuge et le culot est employé comme antigène.

Ce procédé nous donna un antigène beaucoup moins actif que l'extrait aqueux précipité par l'acide acétique.

FISCHER suggère que l'extrait desséché est très riche en facteurs de croissance. Nous n'en avons pas eu les résultats que nous en escomptions. De plus, la poudre séchée perd toute activité antigénique au bout de 48 heures.

b) Antigène préparé selon CASALS (1949)

Les embryons sont pesés et additionnés de 20 cc d'acétone par gramme puis broyés au broyeur à hélice refroidi pendant 2 minutes.

La suspension est mise dans un flacon de 250 cc puis centrifugée 1 minute à 1.500 tours-minute.

On décante, et on ajoute au sédiment 20 volumes d'acétone (comptés en fonction du poids initial : 1 cc par gramme).

Obturer soigneusement et agiter à la main, puis, laisser à la température du laboratoire 20 minutes.

On centrifuge; le liquide opalescent est enlevé, on ajoute au sédiment 20 volumes d'un mélange à parties égales d'acétone et d'éther éthylique anhydre. On laisse 20 minutes à la température du laboratoire en agitant de temps en temps, après la dernière extraction à l'éther et à la dernière centrifugation, on sèche le sédiment en adaptant le flacon à une pompe à vide. La dessication est complète en quinze à soixante minutes. On obtient une poudre fine. On la met immédiatement en suspension dans de l'eau physiologique (1 à 5 fois le poids initial d'embryons).

Avec un extrait embryonnaire préparé selon CASALS, nous avons obtenu le jour même de sa préparation, pour 12 sérums d'individus normaux et 19 sérums de femmes enceintes, des résultats comparables a ceux obtenus avec un extrait total aqueux, mais parfois d'intensité plus faible.

La déviation fut cinq fois de même force; mais elle n'existait souvent que dans le tube de sérum au lieu de la dilution de sérum au I/4 avec l'antigène I; 4 sérums, même, nous donnèrent un résultat faiblement positif au lieu d'une fixation complète dans le tube de sérum pur avec l'antigène n°I (tableau n°VI).

Après 1 mois de vieillissement au frigidaire (voir tableau n°VI), sur 5 sérums trouvés positifs avec l'antigène

aqueux titré et frais, un seul fut encore trouvé positif avec l'antigène de CASALS vieilli.

Il faut donc admettre que les antigènes secs sont moins actifs après vieillissement qu'à l'état frais et que, même frais, ils ne valent pas un extrait aqueux récent que ce dernier soit précipité ou non par l'acide acétique.

Nous avons donc renoncé dans la pratique aux antigènes séchés qui sont d'une préparation minutieuse et fort longue. Le meilleur antigène embryonnaire de poulet paraît être celui qui est obtenu chaque semaine avec des oeufs incubés de 12 jours.

CHAPITRE 1.

PRODUCTION EXPERIMENTALE DES ANTICORPS

Si la conception que nous avons soutenue antérieurement (page 22) sur la qualité des antigènes s'avère exacte, il doit être possible de faire apparaître expérimentalement des anticorps en déclanchant en différents points de l'organisme des multiplications cellulaires importantes.

Nous y avons réussi de différentes façons :

I°) par saignée, grâce à l'excitation de l'hématopoïèse

2°) Par cicatrisation de plaies volontairement faites par :

a) ablation de peau

b) suppression de la jugulaire

c) ablation d'un muscle

3°) Par infection de plaies à l'aide de divers germes microbiens.

Nous avions affirmé, avec NATTAN-LARRIER (I935 b), que des saignées successives rendaient les lapins positifs à une réaction de sérologie. Ces expériences avaient été faites à cette époque par la technique de Bordet, sans témoin sérum, ce qui rendait très critiquables nos résultats antérieurs. D'autre part, un très grand nombre de lapins ont un sérum qui renferme spontanèment des sensibilatrices anti-embryonnaires. Nous avons donc repris ce travail et vérifié

l'exactitude des faits sur de nombreuses espèces : lapins, cobayes, rats, chèvres, chevaux, vaches.

Lorsque l'on saigne des animaux, leur système hématopoïetique entre en jeu. BORDET écrit, d'une façon analogue, que: "Chez les animaux traités par une toxine et que l'on soumet à une copieuse saignée, on voit leur teneur en anticorps, momentanèment très déprimée, remonter, même si l'on n'injecte plus le poison. La saignée activerait la production d'anticorps en excitant les organes hémapoïetiques.

I. - HEMATOPOIESE

Nous avons constaté la présence d'anticorps dans le sang des animaux saignés apres un laps de temps qui est environ de I2 à I8 jours après le début des saignées. Ce fait une fois bien établi, il s'agissait, donc, de savoir, tout d'abord, quelle était la quantité de sang optimum nécessaire à l'apparition des anticorps, ensuite, si c'était le nombre des saignées, ou, au contraire, si c'était le volume de sang seul qui intervenait dans le déclenchement de la réaction de l'organisme qui aboutit à la production des anticorps.

De plus, nous avons tenu à connaître quel intervalle minimum était nécessaire entre la première saignée et l'apparition des anticorps et si une interruption dans les saignées favorisait ou empêchait cette apparition.

Nos expériences furent conduites de quatre façons différentes :

I°) Saignées régulières de 3 et 5 cm^3 pendant I9 jours avec essai sérologique des sérums à chaque saignée. Temps d'arrêt de 25 jours, puis reprise des saignées.

2°) Saignées régulières de I0 cm^3. Examen de chaque prélèvement puis temps d'arrêt de I2 jours et reprise des saignées et des examens sérologiques; puis arrêt définitif des grandes saignées. Ensuite, prises régulières minimum de sang afin d'examiner la persistance des anticorps et suivre la remontée globulaire.

3°) Saignées massives et rapides afin d'enlever en 48 heures le même nombre total de cm^3 que celui qu'on prélevait en I5 ou 20 jours dans les essais I et 2.

4°) Action d'un prélèvement minimum. Nous avons choisi, pour ces essais, comme espèce animale bien démonstrative des cobayes, ceux-ci étant presque toujours négatifs à l'état normal. Pour plus de prudence, nous avons toujours vérifié, au début de chaque expérience, que les animaux ne renfermaient pas dans leur sérum sanguin d'anticorps révélables par les antigènes I et I_2, dont nous nous sommes servis, parallèlement, pour chaque analyse sérologique de ce chapitre.

X

X X

I°) - Saignées régulières de 3 et 5 cm^3

Pour la première série d'expériences, c'est-à-dire, celle des saignées régulières au rythme de 2 fois par semaine pendant 25 jours, nous avons opéré 2 fois sur 6 cobayes provenant de souches différentes. Les premiers subirent des saignées de 3 cm^3 et les six autres des prélèvements de 5cm^3. Ces prélèvements furent faits le matin à jeun par ponction intracardiaque, aux dates suivantes : les 2-7-I0-I3-I5-2I Avril I953; ensuite, un arrêt de I4 jours était observé, puis on fit encore 3 saignées de même importance au rythme d'une fois par semaine.

Pour le premier lot, c'est-à-dire, celui qui avait eu des prélèvements de 3 cm^3, nous avons obtenu des réactions négatives les 2-7 et I0 Avril. Le I3 Avril, la réaction était légèrement positive, soit II jours après le premier prélèvement.

Le I5 Avril, la réaction était franchement positive dans le tube où le sérum était à l'état pur, soit I3 jours après le début des prélèvements; elle persistait le 2I Avril.

Après une interruption de 24 jours, c'est-à-dire le I5 Mai I953, la réaction était de nouveau négative. Le 22 Mai, une nouvelle saignée de 3 cm^3 fut faite et le sérum s'avéra

T A B L E A U N° VII

Réaction de Kahmer en présence d'extrait embryonnaire de poulet.

Dates des Saignées	Saignées de 3 cm³ — COBAYES										Saignées de 5 cm³ — COBAYES									
	1		2		3		4		5	6	1		2		3		4		5	6
2.4.53	-		-		-		-		-	-	-		-		-		-		-	-
7.4.53	-		-		-		-		-	-	-		-		-		-		-	-
10.4.53	-		-		-		-		-	-	-		-		-		-		-	-
13.4.53	±		±		±		±		±	±	+		+		+		+		+	+
15.4.53	+		+		+		+		+	+	+		+		+		+		+	+
21.4.53	+ pur		+ pur		+ pur		+ pur		+ pur	+ pur	+	½	±	¼	+	⅛	+	½	+ pur	+ ½	+ ¼
Arrêt de 25 jours																				
15.5.53	-		-		-		-		-	-	-		-		-		-		-	-
22.5.53	-		-		-		-		-	-	-		-		-		-		-	-
29.5.53	-		-		-		-		-	-	+	½	±	¼	+ pur		+ pur		+ pur	+ ½	+ ½
30.5.53	+ pur		+ pur		+ pur		+ pur		+ ½	+ pur	+	½	±	¼	+ ½		+	½	+ pur	+ ½	+ ½ ± ¼

encore négatif. Enfin, après la saignée du 29 Mai et du 3I, la réaction devint à nouveau positive, soit I4 jours après la reprise des saignées. Le total du sang prélevé était de 30 cm^3 en 59 jours.

Pour le deuxième lot, l'expérience fut conduite exactement de la même façon mais chaque prélèvement de sang était de 5 cm^3.

A la quatrième saignée, soit le I3 Avril, II jours après le début des prélèvements, nous obtenions une réaction franchement positive. Elle se maintint jusqu'au 2I Avril, soit jusqu'au I9è jour après le début des saignées. Elle devint, comme dans l'expérience précédente, négative après un temps d'arrêt de 24 jours et nous ne l'avons retrouvée positive que I4 jours plus tard, mais ici, avec une intensité supérieure : la réaction était très nette avec la dilution de sérum au 1/2.

Le 3I Avril, pour ce lot de cobayes qui avaient eu des ponctions de 5 cm^3, nous pûmes retrouver les anticorps dans le tube renfermant le sérum dilué à I pour 4 (Voir tableau n°VII). Dans cet essai, le prélèvement total fut de 50 cm^3 en 59 jours.

Nous nous sommes demandé alors si le nombre de centimètres cubes prélevés étaient en rapport avec l'apparition des anticorps.

2°) - Saignées régulières de IO cm^3

Pour la troisième série d'expériences, nous avons choisi 6 cobayes et nous leur avons fait une prise de sang de IO cm^3 par voie intracardiaque. Le rythme des saignées fut accéléré; on le pratiqua aux dates suivantes :

les 6-8-IO-I3-I6-I7 Novembre I954; ensuite, un arrêt de I2 jours fut observé, puis on fit encore 3 saignées de la même importance le 29-30 Novembre et le Ier Décembre I954.

Alors qu'au total, dans la première expérience, nous avions prélevé 30 cm^3 en 59 jours, dans la deuxième, 50 cm^3 en 59 jours, dans l'essai actuel, nous avons prélevé 90 cm^3 en 28 jours.

Comme il se doit, nous avions pris soin de choisir des cobayes de poids aussi rapproché que possible : 5I2 grs - 505 g 537 g - 640 g - 680 g - 690 grammes ; malgré leur analogie, ces animaux ne réagirent pas tous de la même manière. (Voir tableau VIII).

Le cobaye N°2 présentait un sérum très légèrement positif, aussitôt après la première saignée. On s'était cependant, assuré avant de commencer ce travail que tous les cobayes avaient une réaction négative en faisant un examen sérologique après un tout petit prélèvement de sang (I cm^3 environ).

9 jours après le début des saignées, soit à la 3è ou 4è saignée, nous observâmes pour les cobayes 3 et 4, des

T A B L E A U N° VIII

Réaction de Kolmer en présence d'extrait embryonnaire. N° I

Dates des Saignées	Nombre de cm^3	Cobaye 1	Cobaye 2	Cobaye 3	Cobaye 4	Cobaye 5	Cobaye 6
4.11.54	10 cm^3	-	±	-	-	-	-
8.11.54	10 cm^3	-	±	-	-	-	-
10.11.54	10 cm^3	-	±	±	-	-	-
13.11.54	10 cm^3	-	+	-	-	+	-
16.11.54	10 cm^3	-	±	-	-	-	-
17.11.54	10 cm^3	-	±	-	-	-	-
		Arrêt de 12 jours.					
29.11.54	10 cm^3	±	±	±	±	±	±
30.11.54	10 cm^3	+	±	+	±	+	±
1.12.54	10 cm^3	+ ½	+ pur	+ pur	+ pur	+ ½	+ pur

positivités passagères qui se négativèrent très vite. Le cobaye 2 présenta régulièrement des réactions partiellement positives I3 jours après le début des saignées. Nous décidions alors d'interrompre les saignées pendant I2 jours. Après cette période de calme total, tous nos cobayes dévièrent faiblement le complèment en présence d'extrait embryonnaire de poulet.

Une grosse saignée fut refaite le lendemain, soit le 30 Novembre. Trois cobayes sur six furent réellement positifs et, le surlendemain, après une saignée qui était en fait la neuvième, depuis le début de l'expérience, ils dévièrent tous le complèment; deux d'entre eux le firent jusque dans la dilution au 1/2.

Il semblerait donc que la saignée massive, loin de favoriser l'apparition des anticorps, la retarderait plutôt (Voir tableau IX).

Les organes hématopoïetiques sont-ils affaiblis par des saignées très fortes et très rapprochées ? Ces affaiblissements empêcheraient-ils le cobaye d'émettre rapidement des anticorps ?

De toutes façons, retenons que l'apparition la plus rapide et la plus forte des anticorps fut obtenue après des saignées de 5 cm^3.

Pendant cette période de saignées, nous avons fait des numerations de globules rouges et de globules blancs.

Expérience des Saignées.

Hématies au m/m3.

6000000
5000000
4000000
3000000
2000000
1000000

Leucocytes au m/m3.

16 000
15 000
14 000
13 000
12 000
11 000
10 000
9 000
8 000

Jours. 1 4 6 9 12 13 25 27 34 41 44 69
Dates. 4-11 8 10 13 16 17 29 30 1-12 8 15 18 12-1-55

Légende.

- ____ Cobaye n° 1
- -----Cobaye n° 2
- .....Cobaye n° 3
- -+-+ Cobaye n° 4
- +++++ Cobaye n° 5
- ——— Cobaye n° 6
- Sérologie
- Saignées de 10 cm3.
- Saignées de 1cm3.
- Arrêt de 12 jours

G

Sachant qu'un cobaye normal adulte a, en moyenne, 5.290.000 globules rouges et 8 à 9.000 globules blancs au m/m^3 de sang, nous avons essayé d'établir un parallélisme entre nos résultats sérologiques et les variations globulaires (tableau X).

C'est au moment où tous les cobayes eurent, dans l'ensemble, perdu des globules rouges et augmenté leur nombre de globules blancs que leur sérum déviait très nettement le complèment en présence de l'antigène I.

Pour les globules rouges, la chute oscillait entre 650.000 et I.700.000 au m/m^3, tandis que l'augmentation des cellules blanches variait de I.600 à 6.800, toujours au m/m^3.

Les cobayes , assez affaiblis, furent alors laissés sans aucune saignée.

Au bout de 7-I4-et I7 jours, un prélèvement de I cm^3 fut fait à nouveau, en vue d'un examen sérologique ainsi que d'une numération globulaire. Les résultats obtenus sont figurés dans la deuxième partie du tableau X.

La persistance de la réaction existait encore I7 jours après l'arrêt des saignées et le taux des hématies avait remonté pour l'ensemble des cobayes. Ils avaient, à peu près tous, retrouvé un taux normal de globules blancs.

TABLEAU N° X

Courbe Correspondante G.

DATE DES SAIGNEES	COBAYE 1 Kohlmer	COBAYE 1 Numération Globulaire	COBAYE 2 Kohlmer	COBAYE 2 Numération Globulaire	COBAYE 3 Kohlmer	COBAYE 3 Numération Globulaire	COBAYE 4 Kohlmer	COBAYE 4 Numération Globulaire	COBAYE 5 Kohlmer	COBAYE 5 Numération Globulaire	COBAYE 6 Kohlmer	COBAYE 6 Numération Globulaire
Grosses saignées 10cm³												
4.11.54		GR 4.200.000		GR 3.850.000		GR 4.250.000		GR 3.900.000		GR 4.000.000		GR 4,500.000
	-	GB 10.200	±	GB 9.600	-	GB 8.200	-	GB 11.600	-	GB 10.800	-	GB 9.200
8.11.54	-		±		-		-		-		-	
10.11.54		GR 3.100.000		GR 3.600.000		GR 3.800 000		GR 2.200.000		GR 3.350.000		GR 4.000.000
	-	GB 11.200	±	GB 10.250	±	GB 10.000	-	GB 9.600	-	GB 8.800	-	GB 11.400
13.11.54	-		+		-		-		+		-	
16.11.54	-		±		-		-		-		-	
17.11.54		GR 3.200.000		GR 3.400.000		GR 3.200.000		GR 3.300.000		GR 3.600.000		GR 3.450.000
	-	GB 12.400	±	GB 11.600	-	GB 13.800	-	GB 12.400	-	GB 9.200	-	GB 12.800
Arrêt de 12 jours												
29.11.54	±		±		±		±		±		±	
30.11.54	+		±		+		±		+		±	
1.12.54	++	GR 3.250.000	++	GR 3.200.000	+	GR 3.000.000	+	GR 2.900.000	++	GR 3.200.000	+	GR 2.800.000
		GB 12.800		GB 14.600		GB 13.000		GB 15.200		GB 12.400		GB 16.000
Petites saignées 1 cm³												
8.12.54		GR 3.700.000		GR 3.350.000		GR 3.720.000		GR 3.050.000		GR 3.120.000		GR 3.500.000
	±	GB 10.600	+	GB 9.800	±	GB 11.000	±	GB 9.800	+	GB 12.000	+	GB 13.600
15.12.54		GR 3.850.000		GR 4.400.000		GR 4.500.000		GR 3.700.000		GR 3.950.000		GR 4.250.000
	±	GB 9.800	±	GB 9.800	±	GB 10.200	±	GB 11.200	+	GB 11.600	+	GB 11.700
18.12.54	+	GR 4.800.000	±	GR 4.600.000	+	GR 4.920.000	+	GR 5.000.000	+++	GR 4.600.000	++	GR 4.300.000
		GB 10.600		GB 10.000		GB 9.600		GB 9.800		GB 11.200		GB 10.800
13. 1.55	-	GR 5.250.000	-	GR 4,920.000	-	GR 5.600.000	-	GR 5.250.000	-	GR 5.300.000	-	GR 5.200.000
		GB 9.400		GB 10.400		GB 10.800		GB 9.200		GB 11.000		GB 9.800

Le I2 Janvier I955, soit I mois après la dernière saignée, tous les sérums de cobayes étaient devenus négatifs et avaient conservé une numération normale. Les examens de numération étaient faits au rythme d'une fois par semaine seulement pour permettre au cobaye de régénérer sa formule globulaire.

Si on considère la réaction sérologique que nous étudions parallèlement avec la numération globulaire, on doit conclure que la positivité des sérums apparaitrait au moment où les animaux ont un taux relativement bas pour les hématies et élevé pour les leucocytes. Ce rapport ne semble, cependant, pas être intimement lié avec notre réaction puisque sans faire baisser le taux des globules par la saignée (cas des petites saignées) nous obtenons, cependant, très régulièrement la formation d'anticorps. C'est plutôt la régénération des cellules sanguines à l'intérieur des organes hématopoïetiques qui semble productrice des anticorps.

3°) Saignées massives rapides

Dans la deuxième série d'expériences relatée ci-dessus nous avons obtenu le premier sérum positif (cobaye n°5), après un prélèvement qui était au total de 40 cm^3.

Etait-ce le délai (qui avait été de 9 jours) qui déclenchait l'apparition des anticorps ou bien au contraire, était-ce le volume de sang prélevé qui intervenait ?

Pour éclaircir ce point, nous avons saigné très rapidement 4 cobayes dont les poids respectifs étaient de 630-650-665-685 grammes. Le premier jour, on leur fit 2 saignées de I0 cm^3. Une à II heures 30 et l'autre à I7 heures 30.

Le surlendemain, on recommença les mêmes ponctions. On avait donc de cette façon, prélevé 40 cm^3 en 48 heures.

Le sérum fut alors examiné en présence d'extrait embryonnaire de poulet et nous n'avons pu obtenir aucune fixation du complèment. La saignée, bien que d'un total suffisant, n'avait donc pas encore déclenché la formation d'anticorps. Les cobayes furent, alors, laissés au repos et alimentés normalement.

I4 jours plus tard, une prise de sang minimum (I cm^3 environ) fut faite et le sérum des animaux examiné. Tous fixèrent le complèment jusque dans les tubes où le sérum était dilué aul/4; une réaction partielle était encore constatée dans les tubes où la dilution était de I pour 8.

Nous pouvions donc affirmer que nous avions favorisé la formation des anticorps par la saignée mais qu'un délai de I4 jours était nécessaire pour les mettre en évidence. Cette expérience prouve encore qu'il s'agit bien d'un anticorps qui est ainsi apparu; leur temps de formation correspond bien à tout ce que l'on connait à ce sujet.

4°) - Avec quel prélèvement minimum peut-on obtenir la formation d'anticorps ?

Sur 4 cobayes pesant respectivement 490-450-420-405 grammes, nous avons prélevé 2 cm3 de sang. Nous avons examiné leur sérum immédiatement et nous avons obtenu une réaction négative. Après un délai de I4 jours, une nouvelle ponction de I cm^3 était faite, mais nous ne pouvions obtenir de fixation de complèment en présence de l'antigène choisi(I)

L'expérience fut donc reprise sur quatre nouveaux cobayes et on fit une série de 4 saignées successives de 2 cm^3 à raison de 2 par semaine. A la 4è saignée, le sérum des cobayes fixait le complèment dans le premier tube de la réaction, c'est-à-dire, dans celui où le sérum était pur. Il s'était écoule I5 jours entre la première saignée et l'examen sérologique.

Ces expériences furent reprises sur des rats, lapins, chèvres, chevaux et vaches.

Les indications que nous avions obtenues sur le cobaye nous ont permis de fixer ainsi l'importance des saignées pour les autres espèces animales :

Pour le cobaye, les saignées étaient de 5 cm^3
Pour le rat, les saignées étaient de 3 cm^3
Pour le lapin, elles étaient de 7 cm^3
Pour la chèvre, elles étaient de 20 cm^3
Pour la vache, elles étaient de 50 cm^3
Enfin, pour les chevaux, elles étaient de 80 à 100 cm^3.

Pour les petits animaux, nous avons adopté le rythme de 2 saignées par semaine tandis que pour les gros (chèvre, vache, chevaux), nous n'avons fait qu'une saignée par semaine. A la 4è saignée, le sérum des rats et des lapins, devint, comme pour le cobaye, positif.

Les gros animaux eurent un sérum qui donna un résultat partiellement positif dès la 2è saignée, soit 9 jours après le début des prélèvements, mais ne devint vraiment positif (et alors jusque dans la dilution I pour 4 seulement) qu'après la 4è saignée, soit environ I mois après le début de l'expérience; certains, même, nous donnèrent des sérums dans lesquels nous avons pu obtenir une réaction jusque dans les dilutions au 1/32°.

Tous les animaux, sans exception, qu'ils soient porteurs ou non de l'antigène de Forssman deviennent ainsi positifs après 4 saignées proportionnées à leur poids.

La persistance des anticorps dans les sérums des animaux est très différente suivant les espèces; par ordre croissant, nous pouvons citer le cobaye, le rat, la vache, le cheval, le lapin et la chèvre. Ce dernier animal nous

donna,après 4 mois d'arrêt dans le temps des saignées, des réactions très nettement positives (++ dans la notation à +++)

Il faut signaler que le sérum des rats était parfois anticomplèmentaire. Très souvent, le fut aussi celui des lapins, des vaches, des chevaux et des chèvres.

Pour ces derniers animaux, deux techniques furent employées :
déviation par la méthode CALMETTE-MASSOL.
déviation par la méthode KOLMER, en faisant alors des dilutions de sérums. Le pouvoir anti-complèmentaire ne s'étendai+ pas plus loin que dans les tubes où le sérum était pur, ou, au plus, dans les tubes où la dilution était au 1/2. Pour les sérums des vaches et des chevaux, qui étaient extrêmement riches en anticorps, nous pouvions donc lire la réaction au delà des tubes où toute l'alexine était fixée par le pouvoir anticomplèmentaire, puisque nous avions le plus souvent des fixations du complèment jusque dans les tubes où la dilution était au 1/32è.

La technique de CALMETTE et MASSOL était toujours moins sensible que celle de KOLMER; nous ne l'avons employee que pour les sérums très fortement anti-complèmentaires, c'est-à-dire en pratique ceux des rate et des lapins.

En conclusion, nous pouvons dire que l'apparition des anticorps correspondant aux antigènes décrits ci-dessus (P.32 et P.34) peut donc être provoquée en excitant les organes hématopoïetiques.

II . - EXPERIENCE DE CICATRISATION

Nous nous sommes demandé si une multiplication cellulaire autre que la régénération des cellules sanguines ferait également apparaître des sensibilisatrices révélables par les extraits embryonnaires.

a) Ablation de peau

Pour mettre cette hypothèse en évidence, nous avons disposé l'expérience suivante :

3 lots de 5 rats furent choisis (vieux rats mâles pesant de 280 à 327 grs). Les femelles furent éliminées de nos expériences (les gestations, comme nous le verrons dans un prochain article, intervenant dans nos réactions). Dans chaque lot, une biopsie fut pratiquée sur I2 rats, les 3 autres étant destines a nous servir de témoins.

Après avoir rasé le flanc et le dos de l'animal, ce dernier était anesthésié à l'éther. L'anesthésie devait être très légère; sans cela, le rat meurt très rapidement

Une quantité de sang minimum était prelevée au coeur pour vérifier que le sang de l'animal était, au départ, dépourvu d'anticorps. Le même prélèvement était fait sur les rats témoins.

Ensuite, on découpait au scalpel I carré de 0,5 cm de côté sur le 1/3 des rats, soit 4 rats.

Sur les quatre rats suivants, on faisait une ablation de I cm de côté et, enfin, sur les quatre derniers, on faisait une ablation de 2 cm de côté.

Les rats furent régulièrement ponctionnés au coeur toutes les semaines à partir du 6è jour. Le même prélèvement de sang fut opéré sur les rats témoins; nous prenions chaque fois le minimum de sang, soit 0,5 cm^3, afin d'éviter l'erreur due aux saignées, celles-ci à elles seules, comme nous l'avons établi, entraînant l'apparition des anticorps.

Le sang des rats était laissé une nuit à + 5°C. Le caillot était ensuite décollé. Le sérum prélevé puis centrifugé et inactivé à 56° C, enfin, mis en présence d'extrait embryonnaire de poulet aqueux, d'extrait embryonnaire précipité par l'acide acétique, d'extrait de thymus et enfin d'extrait testiculaire de bélier.

Seuls, les rats ayant subi une ablation de 4 cm^2 donnèrent une réaction positive au I5è jour et ceci avec tous les antigènes. Cette réaction se maintint jusqu'au 25è jour et était complètement disparue au bout d'un mois à dater de la dernière prise de sang. Les rats témoins restèrent négatifs. L'apparition de la positivité correspondait avec une cicatrisation presque totale. Un mois après la fin de l'expérience, le poil de l'animal cachait presque complètement la cicatrice.

Cette expérience fut repétée sur un lot de 8 cobayes dont les poids oscillaient entre 520 et 690 grammes. Quatre cobayes devaient nous servir de témoins, tandis que les

quatre autres subirent une ablation de peau de 4 cm^2, le 28 Décembre I954. Le II Janvier, soit I4 jours après l'opération, nous avons fait un prélèvement de sang de 2 cm^3. Le sérum, après avoir été inactivé, fut examiné en présence des quatre antigènes indiqués ci-dessus. Deux cobayes, seulement, donnèrent une réaction partiellement positive dans les tubes où le sérum était à l'état pur. Les deux autres eurent une réaction négative. Les sérums des quatre témoins ne dévièrent absolument pas le complèment. La cicatrisation était, ce jour-là, encore assez incomplète, puisque la taille des plaies oscillait, à ce jour, entre 0,5 et I,5 cm de côté. Il faut donc admettre que le cobaye élabore des anticorps plus lentement et qu'il se cicatrise moins vite que le rat.

Le I7 Janvier, soit 20 jours, après l'opération, un nouveau prélèvement de sang fut fait (prélèvement minimum I cm^3); les plaies oscillaient à cette date entre 0,4 x 0,4 et 0,3 x 0,3 cm. L'examen de sérologie nous donna, pour 3 cobayes, une réaction positive dans les tubes où le sérum était pur. Pour un cobaye, la fixation du complèment alla jusque dans le tube renfermant le sérum dilué au 1/4. Les 4 témoins ne dévièrent pas le complèment. Pour le cobaye, comme pour le rat, nous ne pouvons ainsi déceler les anticorps que lorsque la plaie présente une cicatrisation importante.

b) Suppression d'une jugulaire par ligature -

Une deuxième expérience fut faite sur quatre rats, auxquels on avait sectionné et ligaturé une jugulaire. Les bords de la plaie furent rapprochés à l'aide d'agrafes.

8 jours après l'opération, on commença les prélèvements de sang (0,5 cm^3) et les examens sérologiques.

Au quinzième jour, le sérum de ces rats déviait le complèment en présence de nos antigènes. La réaction devint positive au moment où une cicatrisation importante était amorcée.

c) Ablation d'un muscle -

Une troisième expérience était destinée à savoir si une ablation profonde activerait ou ralentirait la formation des anticorps.

Elle fut disposée ainsi : 3 cobayes d'âge à peu près semblable, pesant respectivement ,280 - 280 et 340 grammes furent chcisis. Un test préliminaire avait démontré que leur sérum ne déviait pas le complèment en présence d'extrait embryonnaire de poulet.

Le premier cobaye (280g) fut conservé comme témoin.

Le deuxième cobaye (280g) subit une incision de la peau (2 cm).Cette incision fut pratiquée sans épanchement sanguin.

Sur le troisième cobaye (340g), après avoir incisé la peau, on pratiquait l'ablation d'une partie musculaire de la cuisse (le fémur devenait apparent).

Les trois cobayes furent mis dans une cage et les ponctions sanguines furent commencées : la première au bout de 8 jours, la deuxième au bout de I2 jours, la troisième au bout de I8 jours et la quatrième au bout de 2I jours.

Le sang fut, chaque fois, traité de la même façon.

Au bout de I2 jours, on constatait un résultat sérologique partiellement positif pour le cobaye qui avait subi l'ablation du muscle.

A la troisième saignée, le sérum du témoin était toujours absolument négatif. Le cobaye ayant eu une simple incision donnait un résultat partiellement positif, celui qui avait subi l'ablation musculaire était franchement positif.

A la quatrième saignée, le témoin était encore négatif (son sérum avait, cependant, tendance à être moins limpide) mais les deux autres cobayes avaient un sérum sanguin franchement positif. Ils présentaient, à ce jour, une cicatrisation presque totale.

On pouvait donc en conclure que l'apparition des anticorps était plus rapide par l'ablation du muscle que par l'incision de la peau, ce qui laisserait supposer que l'im-

portance des multiplications cellulaires, et pas seulement, le délai écoulé depuis le traumatisme initial, joue un rôle essentiel.

Un mois après la dernière ponction cardiaque, c'est-à-dire sept semaines environ après la première, la cicatrisation était telle qu'il était impossible de déceler l'emplacement où l'incision de la peau avait été pratiquée. Le cobaye ayant subi l'ablation avait une cicatrice linéaire et le poil était presque entièrement repoussé. Une ponction fut faite et la réaction de Kolmer fut négative. La persistance des anticorps chez le cobaye est donc de courte durée.

III - Entretien des plaies -

Nous avons réalisé cette série d'expériences en tentant d'empêcher la cicatrisation naturelle des plaies de différentes façons :

a) par infections avec diverses bactéries

b) par arrachage quotidien de la croûte

a) Dans ces expériences, nous avons essayé de déterminer si la cicatrisation d'une plaie cutanée était retardée lorsque la plaie était infectée et si l'animal, dans ce cas, élaborait plus rapidement des anticorps décelables par l'antigène I et I_2 que lorsque la cicatrisation est plus rapide, laissée à elle-même.

24 cobayes furent choisis. Leur poids oscillait entre 400 et 500 grammes

6 étaient destinés à servir de témoins

6 devaient être infectes par une souche de Colibacille (Escherichia coli).

6 devaient être infectés par une souche de staphylocoque doré (Micrococcus pyogenes var. aureux.)

6 devaient être infectes par une souche de bacille de WELCH (Welchia perfringens)

Après s'être assuré que le sérum des cobayes était dépourvu d'anticorps au départ, une ablation de peau de 4 cm^2 était faite sur la face dorsale de chaque animal.

Le 28 Décembre, les 24 cobayes avaient sur le dos un carré de peau enlevée de 2 cm de côté.

Les témoins furent mis dans une cage séparée.

Les cobayes devant être infectés par la souche de Colibacille reçurent sur leur plaie fraîche, IO gouttes d'une culture de 24 heures en bouillon. Il en fut de même pour les cobayes devant être infectés par du staphylocoque doré. Les cobayes destines a une infection à base de W. perfringens reçurent 0,5 cm^3 d'une culture en bouillon injectée sous la plaie, puisque ce germe est anaérobie.

Les badigeonnages et injections furent répétés les 29, 30,3I Décembre et le 3 Janvier.

Toutes les plaies furent mesurées régulièrement et en même temps, pour tous les cobayes.

Le 30 Décembre, aucun changement n'était encore apparent pour aucun cobaye.

Le 3 Janvier, les plaies des cobayes témoins étaient sèches et saines et mesuraient : 2 cm x I,8 cm = 3,6 ou 360 mm^2.

Les plaies des cobayes infectés par du colibacille montrèrent une cicatrisation très régulière dans l'ensemble, mais où l'on peut pourtant déceler certaines phases particulières : d'abord, il se produit une forte inflammation périphérique puis la croûte parait se soulever. Il s'amorce, alors, un rétrécissement de la plaie, au 8è jour, au lieu du 6è pour les temoins; la plaie, ensuite, reste stationnaire et se creuse pendant 4 jours, au bout desquels deux cobayes meurent. Puis, pour les survivants, soudainement, en 48 heures, la plaie se ferme à vue d'oeil; plus de gonflement, la croûte est saine et le rétrécissement est important. Le I7è jour, la cicatrisation est presque aussi avancée que celle des témoins.

Les cobayes infectés par le staphylocoque se comportent différemment : 8 jours après l'opération, il n'y a aucun changement quant à la taille de la surface. La plaie est

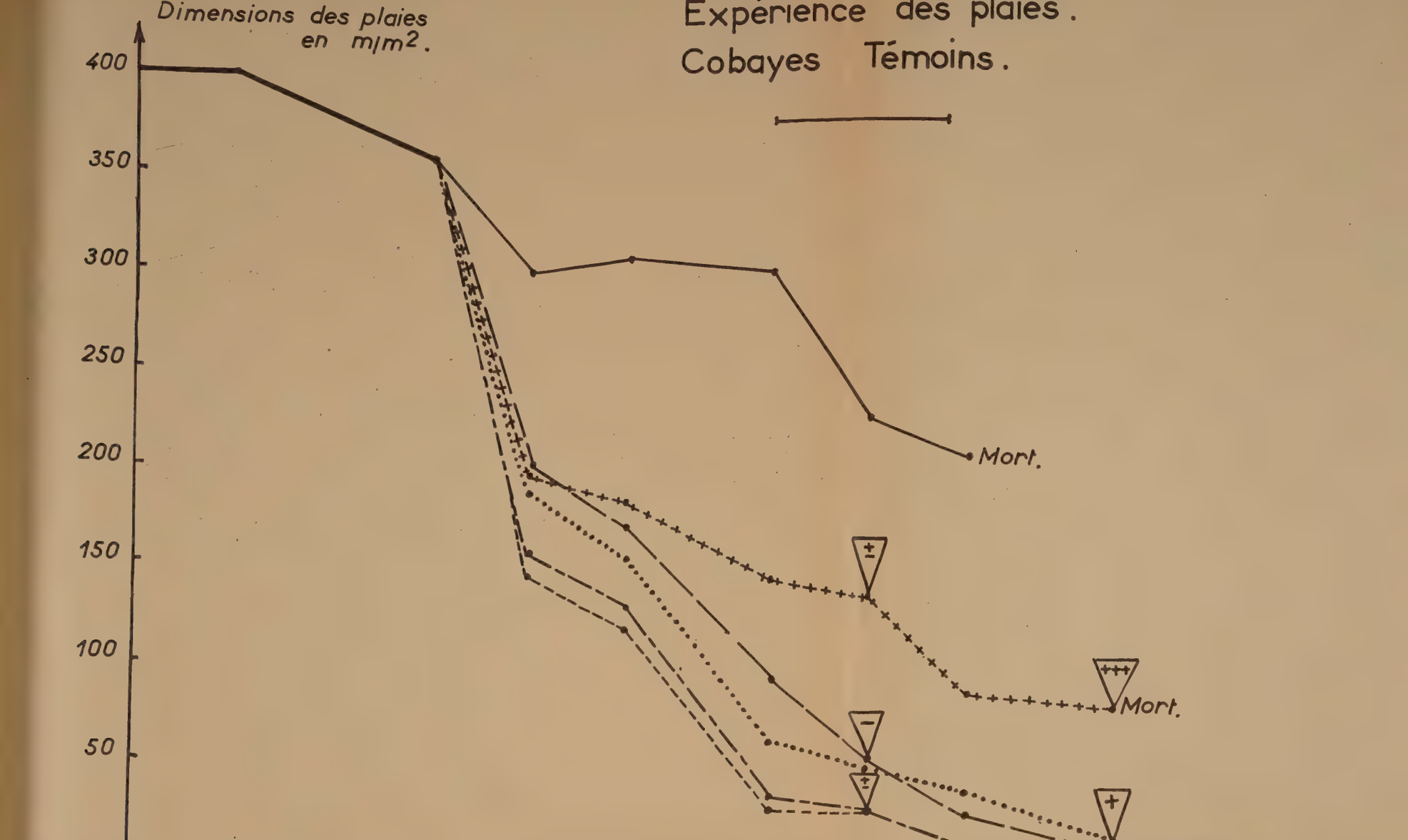
TABLEAU N° .XI

Temps de Cicatrisation et Surface des plaies en mm^2.

Courbes Correspondantes A.B.C.D.E.F.

DATE	Cobayes Témoins N° 1	2	3	4	5	6	Moyenne Surface	Cobayes Injection Coli-bacille. N° 7	8	9	10	11	12	Moyenne Surface	Cobayes Injection Staphylocoque. N° 13	14	15	16	17	18	Moyenne Surface	Cobayes Injection Perfringens. N° 19	20	21	22	23	24	Moyenne Surface	Plaies entretenues N° 25	26	27	28	29	30	Moyenne Surface
28.12	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400
30.12	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400
3.1	360	360	360	360	360	360	360	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	320	250	320	250	320	320	296,6
5.1	300	144	196	180	198	156	176,8	225	225	225	225	225	225	225	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	300	300	300	300	300	300	300	300	220	300	220	250	250	256,6
7.1	360	120	182	154	170	132	151,6	300	300	225	225	300	225	262,5	225	196	198	225	182	196	207	225	225	225	225	225	225	225	225	225	180	220	180	198	182	197,5
10.1	300	25	144	64	91	35	71,8	300	300	196	210	225	144	229,1	182	154	100	156	100	144	139,3	196	196	196	196	196	196	196	196	140	70	140	80	140	140	118,3
12.1	225	25	132	49	64	25	59	Morts		70	70	70	70	70	Mort	70	49	100	49	100	73,6	100	100	100	100	100	100	100	100	100	40	70	40	80	80	68,3
14.1	206	9	81	35	25	16	33,2			40	40	40	40	40		54	48	54	40	81	55,4	100	70	100	54	70	54	74,6	49	16	35	16	49	35	33,3
17.1	Mort	0	77	16	12	9	23,6			28	25	21	28	26,5		21	25	28	20	80	34,8	80	32	81	35	32	35	49,1	20	12	15	12	20	15	15,6
19.1		0	Mort	10	0	10	5			0	0	0	0	0		0	0	0	0	25	5	48	9	48	0	9	0	19	4	0	0	0	4	0	1,3

Expérience des plaies.
Cobayes Témoins.



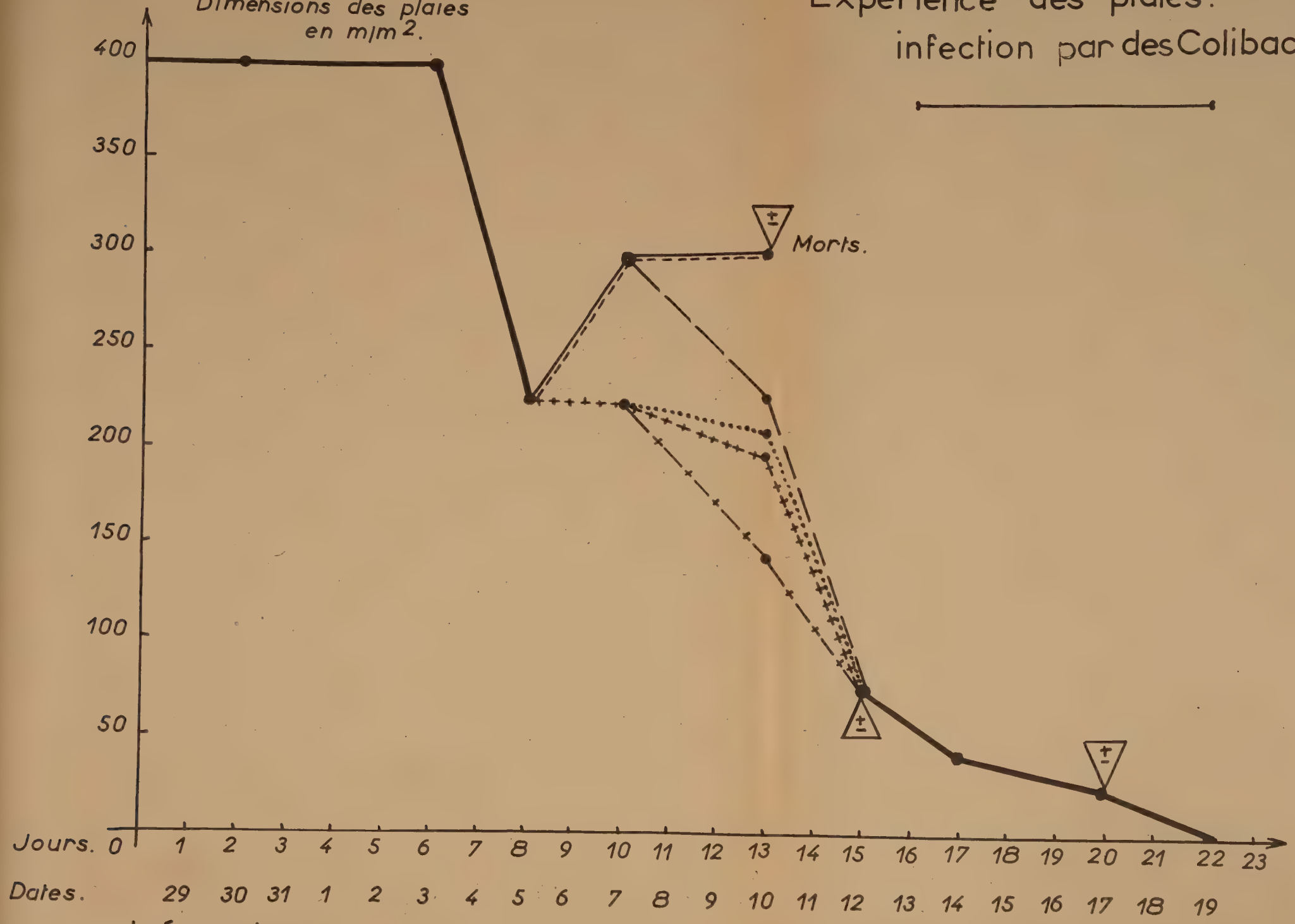
Légende.

———	Cobaye n°	1
- - - -	–	2
+ + +	–	3
.....	–	4
— —	–	5
—+—+	–	6

▽ Sérologie.

(A)

Expérience des plaies.
infection par des Colibacilles.

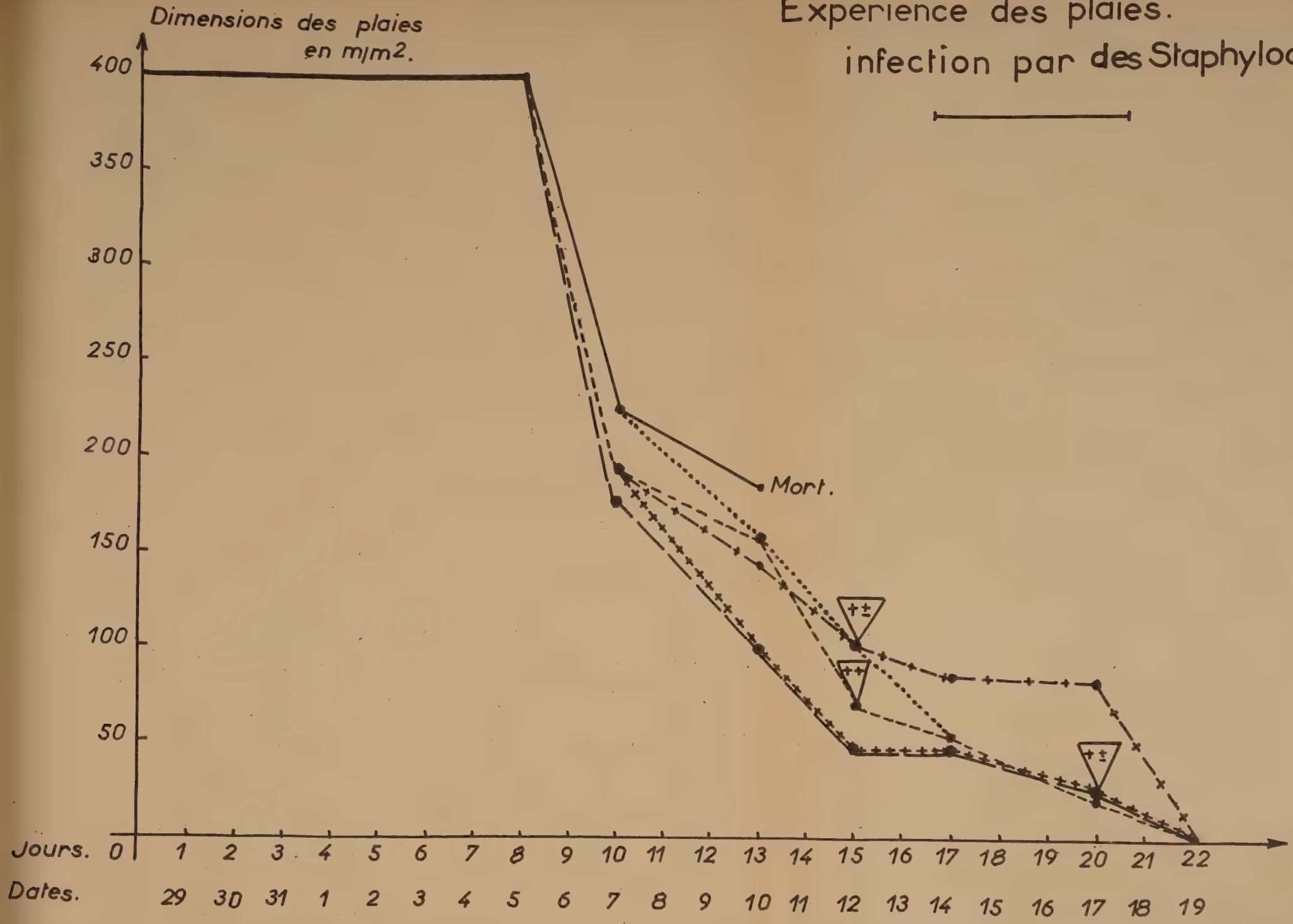


Légende.

——— Cobaye n° 1 ▽ Sérologie.
------ – 2
++++++ – 3
..... – 4
— — – 5
—+—+ – 6

B

Expérience des plaies.
infection par des Staphylocoques.



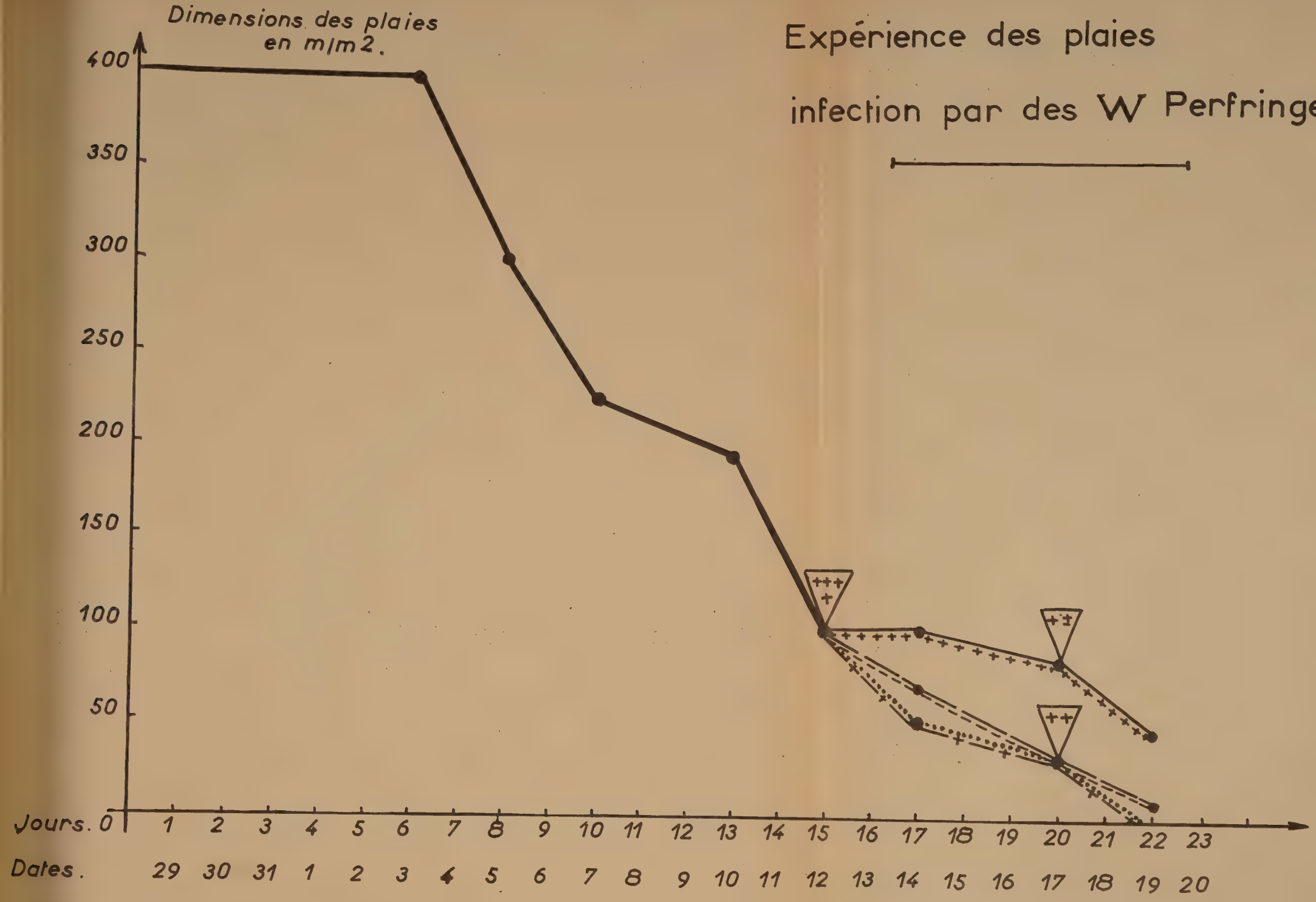
Légende.

——— Cobaye n° 1 ▽+ Sérologie.
- - - - - - 2
+ + + + + 3
..... 4
— — 5
— + — + 6

©

Expérience des plaies

infection par des W Perfringens.

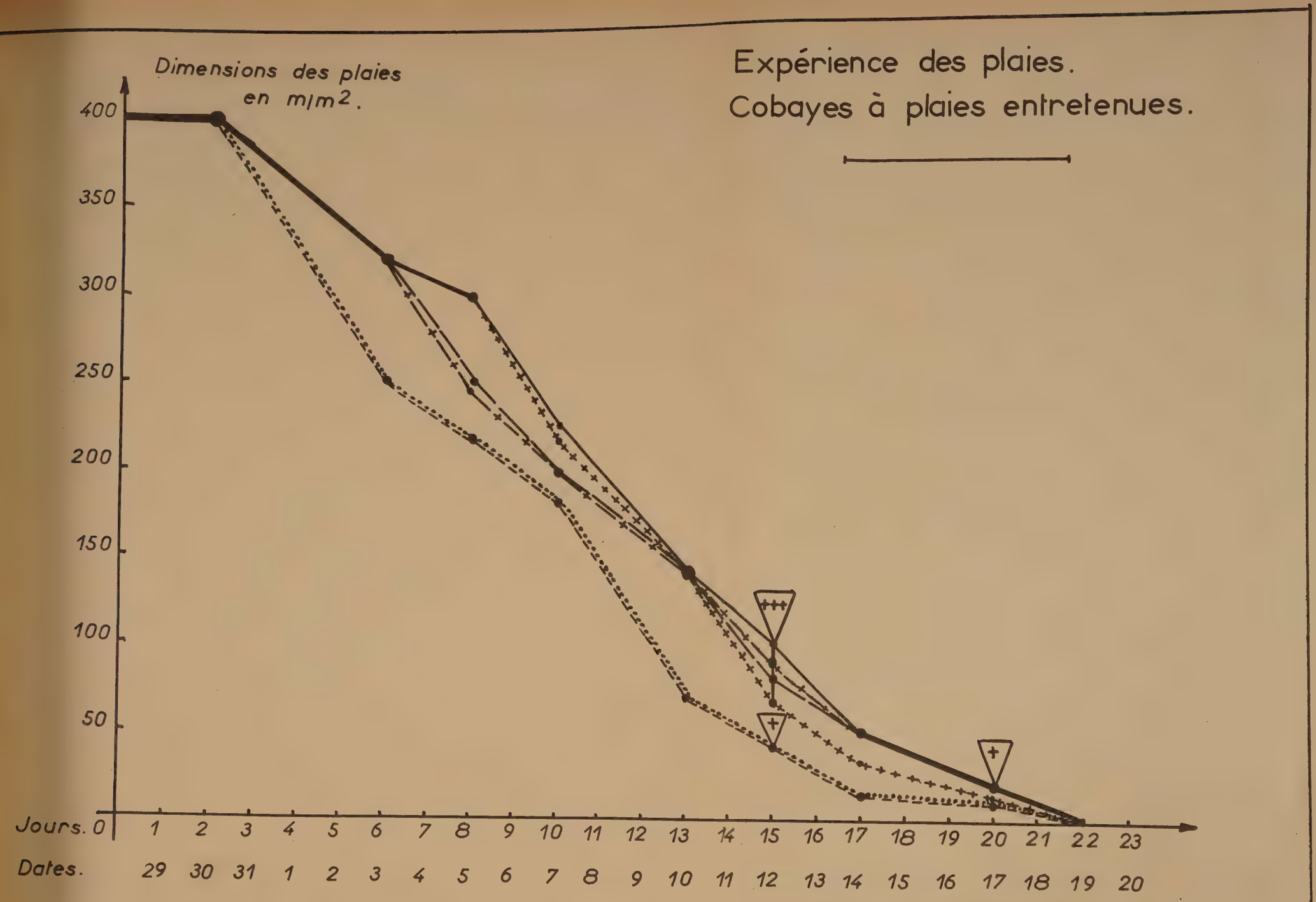


Légende.

——— Cobaye n°1 ▽+ Sérologie.

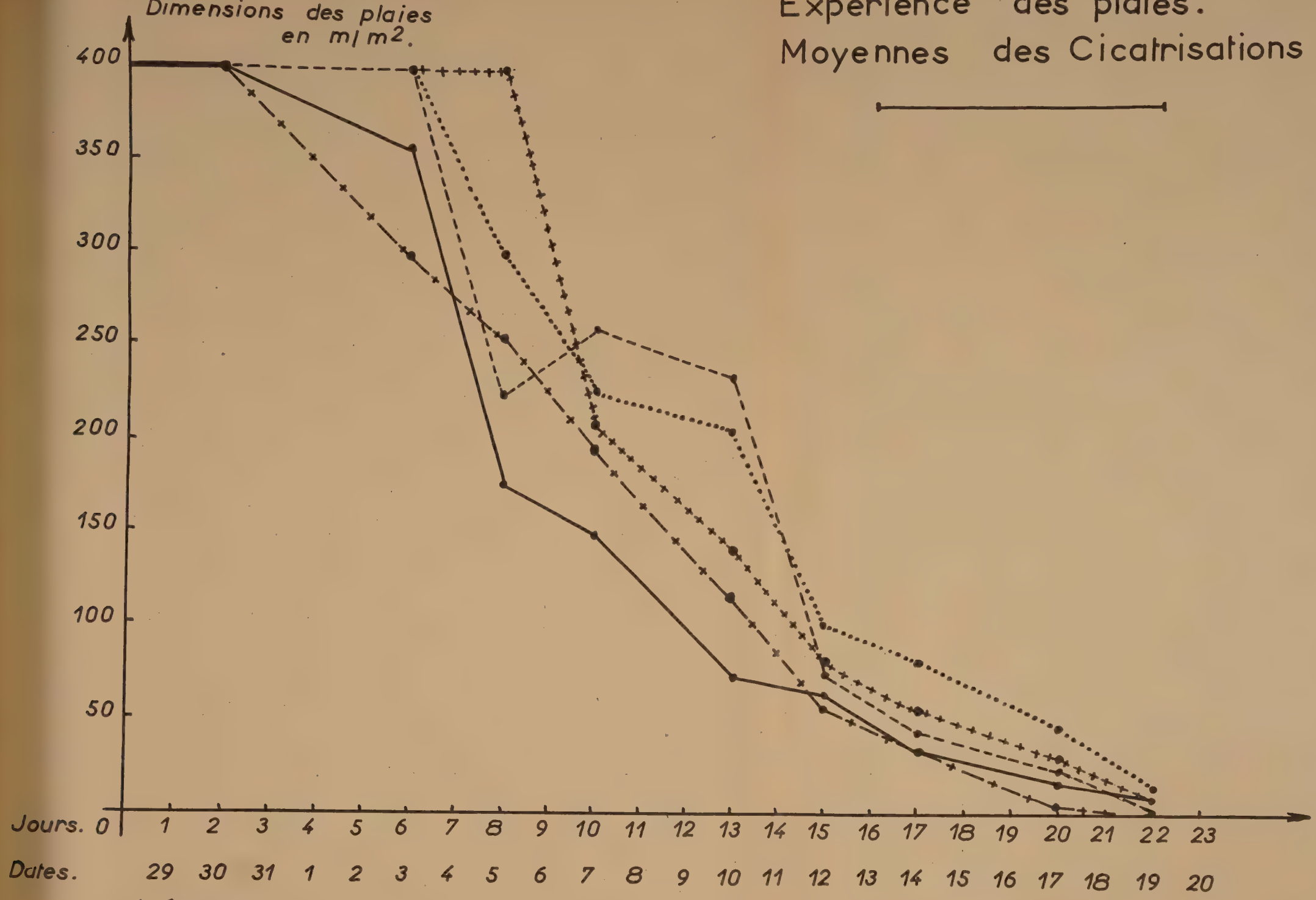
- - - - - - 2
+ + + + + 3
. 4
— — 5
— + — + 6

D


Expérience des plaies.
Cobayes à plaies entretenues.
Dimensions des plaies en m/m2.
400
350
300
250
200
150
100
50
Jours. 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23
Dates. 29 30 31 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
Légende.
Cobaye n° 1
Sérologie.
2
3
4
5
6

E

Expérience des plaies.
Moyennes des Cicatrisations.



Légende

——— Cobayes témoins.
------ Cobayes à plaies infectées par des colibacilles.
+++++ Cobayes à plaies infectées par des staphylocoques.
..... Cobayes à plaies infectées par des w. perfringens.
–+–+ Cobayes à plaies. entretenues.

très vilaine, avec des pustules sous la croûte qui, par endroit suppure; les animaux ont peu d'appétit, sont très affaiblis et paraissent très malades. Le I5è jour, un cobaye meurt et les autres, tout en ayant encore des plaies suintantes et purulentes, semblent prendre le dessus, tandis que les plaies commencent à sécher et à diminuer de surface, mais la guérison est plus longue que pour le colibacille.

Les cobayes infectés par une culture de Welchia perfringens se comportèrent d'une façon encore différente. Ils présentèrent, jusqu'au I5è jour, une similitude absolue entre eux; ensuite, on put observer des variations importantes dans leur cicatrisation dont nous donnons le détail dans le tableau n°XI.

Les cobayes infectés avec une souche de W. perfringens subissent vis-à-vis des témoins une action freinatrice très nette, mais leurs plaies rétrécissent très graduellement et très régulièrement. Ils ont une apparence de bonne santé. Au I7è jour, ils sont toujours très nettement en retard comme cicatrisation.

Nous référant aux expériences précédentes "ablation de peau simple sans infection", nous avons pratiqué notre première prise de sang, en vue d'un examen sérologique, le I5è jour; ainsi, nous allions pouvoir suivre les cobayes jusqu'à leur guérison en évitant les erreurs possibles dues aux saignées.

Le I2 Janvier I955, voici ce que nous avons obtenu :

- a) Cobayes témoins : Trois d'entre-eux présentèrent des sérums qui ne dévièrent pas le complément en présence de l'antigène I. Les trois autres donnèrent un résultat partiellement positif dans le premier tube, c'est-à-dire, dans celui où le sérum est à l'état pur.

- b) Les sérums des cobayes infectes par le colibacille étaient, comme les témoins, partiellement positifs dans le tube de sérum pur.

- c) Les sérums des cobayes infectés par le staphylocoque donnèrent les résultats suivants :
3 furent positifs (+) dans le tube renfermant le sérum pur et partiellement positif (±) dans les tubes de sérum dilué au I/2 et au I/4
2 furent positifs (+) dans le tube renfermant le sérum pur et négatif (-) ensuite; un fut partiellement positif (±) dans le tube de sérum pur et négatif ensuite.

- d) Les sérums de cobayes infectés par W. perfringens se comportèrent de la fçon suivante :
Un sérum fut positif jusqu'au I/8 et partiellement positif au I/I6 .

TABLEAU N° XI bis

TABLEAU DES PLAIES ET SEROLOGIE CORRESPONDANTE.

N° des COBAYES		Après 15 jours						Après 17 jours	Après 20 jours					
		Taille des plaies en mm^2	SEROLOGIE pur	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$	Taille des plaies en mm^2	Taille des plaies en mm^2	SEROLOGIE pur	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{16}$
Témoins	1	225	−	−	−	−	−	206	mort					
	2	25	±	−	−	−	−	9	0	+	−	−	−	−
	3	132	±	−	−	−	−	81	77	+	+	+	±	mort
	4	49	−	−				35	16	+	±	−	−	
	5	64	−	−	−	−		25	12	+	±	−	−	
	6	25						25	12					
Cobayes infectés avec Colibacille	7	300	±	−	−	−		mort	mort					
	8	300	±	−	−	−		mort	mort					
	9	70	±	−	−	−		40	28	±	−	−	−	
	10	70	±	−	−	−		40	25	−	−	−	−	
	11	70	±	−	−	−		40	21	−	−	−	−	
	12	70	±	−	−	−		40	28	−	−	−	−	
Cabayes infectés avec Staphyloco-que.	13	182	+	−	−	−		mort	mort					
	14	70	+	±	±	−		54	21	+	±	−	−	
	15	49	+	−	−	−		48	25	+	−	−	−	
	16	100	+	±	±	−		54	28	+	−	−	−	
	17	49	+	−	−	−		48	20	+	+	−	−	
	18	100	±	−	−	−		81	80	+	−	−	−	
Cabayes infectés avec Welchea Perfringens.	19	100	+	+	+	+	±	100	80	+	±	−	−	
	20	100	+	+	+	+	−	70	32	+	+	±	−	
	21	100	+	+	±	±	−	100	81	+	+	±	−	
	22	100	+	+	+	+	−	54	35	+	−	−	−	
	23	100	+	+	+	+	−	70	32	+	−	−	−	
	24	100	+	+	±	±	−	54	35	+	−	−	−	
Cobayes avec plaies entretenues.	25	100	+	+	+	±	−	49	20	+	±	−	−	
	26	40	+	±	±	−	−	16	12	+	−	−	−	
	27	70	+	+	+	±	−	35	15	+	+	±	−	
	28	40	+	±	±	−	−	16	12	+	−	−	−	
	29	80	+	+	+	±	−	49	20	+	−	−	−	
	30	80	+	+	+	±	−	35	15	+	+	±	−	

3 sérums furent positifs jusqu'au I/8.
2 sérums furent positifs jusqu'au I/2 et partiellement positifs au I/4. Dans cette première série d'essais sérologiques, nous devions donc constater que les témoins avaient leur sérum dépourvu d'anticorps; tout ceci est conforme à nos expériences précédentes, puisque les cobayes avaient encore une plaie ayant une surface de 59mm^2 et que nos plus forts résultats sérologiques ne furent obtenus que lors d'une cicatrisation presque totale.

A l'examen sérologique du I7 Janvier soit 20 jours après l'opération, (tableau XI bis), nous fîmes les constations suivantes :

a)-Cobayes témoins

Le sérum sanguin de l'un d'entre eux donna une réaction positive avec le produit non dilué seulement. Deux présentèrent une réaction positive avec le sérum pur et partiellement positive avec le sérum au I/2. L'un donna une réaction positive avec la dilution au I/4 et partiellement positive avec la dilution au I/8.

b)-Cobayes à plaies infectées par le colibacille

Les sérums de 3 d'entre eux donnèrent des résultats négatifs. Le sérum d'un seul donna un résultat partiellement positif dans le premier tube (sérum pur).

c)- Cobayes à plaies infectées par le staphylocoque

Les sérums de trois d'entre eux donnèrent un résultat positif mais sans dilution.
Le sérum d'un seul présenta une réaction positive non dilué et partiellement positive au I/2.
Le cinquième sérum permit d'obtenir une réaction d'hémolyse positive jusque dans la dilution au I/2

d)- Cobayes à plaies infectées par le bacille de WELCHE

Les sérums de trois d'entre eux fournirent une réaction positive seulement à l'état pur.
Un autre fixa complètement le complèment en présence de l'antigène I à l'état pur et partiellement une fois dilué au I/2.
Deux, enfin réalisèrent complètement la fixation, deux fois dilué au I/2 et partiellement dilué au I/4.

La positivité des sérums de ces derniers avait donc diminuée, tandis qu'elle avait augmentée chez les témoins et les cobayes infectés par le staphylocoque.

b) Par arrachage quotidien des croûtes -

Trois cobayes subirent, comme les precédents, une ablation d'un lambeau de peau de 4 cm^2. Dès que la croûte fut formée, on l'enleva tous les 2 jours en l'arrachant d'un coup sec avec une pince à griffe.

Si nous comparons le comportement de ces cobayes avec les témoins, nous constatons que leur cicatrisation démarre à la même date que celle des témoins, tandis que les plaies infectées ne se modifient pas pendant les 6 premiers jours.

Ensuite, pendant 4 jours, la guérison des témoins et des animaux à plaies entretenues marche parallèllement, mais la cicatrisation de ces dernières présente un léger retard sur les témoins du 8è au I5è jour, pour être sensiblement égale au I7è jour.

Du point de vue de la sérologie, la différence est importante, puisque dès le I5è jour, les cobayes qui ont des plaies entretenues ont un sérum riche en anticorps;en effet :

2 sérums de cobayes étaient positifs à l'état pur et partiellement positifs une fois dilués jusqu'au I/4.

4 sérums étaient positifs jusqu'à la dilution au I/4 et partiellement positifs au I/8.

Le I7 Janvier, par contre, ces cobayes présentaient tous une chute du taux de leurs anticorps.

3 sérums étaient positifs à l'état pur seulement,
I était positif à l'état pur et partiellement positif une fois dilué au I/2, les 2 derniers étaient positifs au I/2 et partiellement positifs au I/4.

TABLEAU N° XII

N° du cobaye	GLOBULES ROUGES			GLOBULES BLANCS		
	Nombre de globules rouges après 1 saignée	Nombre de globules rouges après 9 saignées	Chute des globules rouges.	Nombre de globules blancs après 1 saignée	Nombre de globules blancs après 9 saignées	Augmentation globules blancs.
1	3 900 000	2 900 000	1 000 000	11 600	14 600	3 000
2	4 500 000	2 830 000	1 670 000	10 200	16 000	5 800
3	3 850 000	3 000 000	850 000	-	14 600	-
4	4 250 000	2 900 000	1 350 000	-	13 000	-
5	4 000 000	3 200 000	800 000	11 600	12 000	400
6	4 200 000	3 400 000	800 000	11 600	10 000	1 600

IV Influence des injections de sérums riches en anticorps :

Nous avons étudié cette influence :

1°) sur des cobayes saignés dont la formule sanguine était en période de régénération.

2°) sur des cobayes ayant subi une biopsie cutanée.

1°) Nous venons de voir (page49) que des saignées de IO cm^3 modifiaient la formule sanguine. Nous nous sommes demandé si la remontée des globules rouges serait activée ou, au contraire, freinée par l'injection d'un sérum riche justement en anticorps correspondant à un tissu en pleine multiplication cellulaire. Pour obtenir ce sérum riche en anticorps, nous avons injecté régulièrement à un cobaye de l'extrait embryonnaire de poulet, et nous avons prélevé son sérum, lorsque celui-ci fixait le complément en présence de l'antigène, jusqu'à la dilution au I/64.

Six cobayes dont nous avons vérifié au départ que leur sérologie était régulière furent saignés régulièrement, le prélèvement était deIO cm^3 par ponction cardiaque tous les trois jours. A la 9è saignée, soit 27 jours plus tard, leurs hématies avaient très fortement diminué en nombre tandis que les leucocytes étaient en augmentation (Tableau XII).

A ce moment, nous avons divisé les cobayes en trois lots de 2, les quatre premiers cobayes étant destinés à nous ser-

vir de témoins: le N°I et le N°2 serviraient de témoins sans aucune injection; le N°3 et le N°4 serviraient de témoins avec injections de sérum de cobaye normal.

Enfin, le N°5 et le N°6 recevraient des injections de serum de cobaye riche en anticorps.

Les injections furent pratiquées les 4, 6, 8, IO Décembre. Les cobayes 3 et 4 recevaient I cm^3 de sérum de cobaye normal, tandis que les cobayes 5 et 6 recevaient I cm^3 de sérum de cobaye riche en anticorps.

Après les neuf saignées, le sérum de tous ces animaux fut examiné, du point de vue sérologique, avant de pratiquer les injections. Le sérum des cobayes N°I et le cobaye N°2 fixait le complèment dans le Ier tube de la réaction (sérum pur). Les cobayes N°3 et N°4 donnèrent le même résultat; enfin. les cobayes N°5 et 6 eurent un sérum positif dans les deux premiers tubes, c'est-à-dire, jusque dans la dilution au I/2.

A chaque injection, une très légère prise de sang (I cm^3 environ) fut faite pour numérer les globules et réaliser une reaction de sérologie.

Après la première injection, les cobayes 3,4,5 et 6 accusent une légère remontée sanguine, tandis que les témoins continuent à présenter une chute de globules rouges et une augmentation de globules blancs. Nous attribuons l'augmentation des globules chez les cobayes 3,4,5 et6 à l'injection qui agit comme un sérum thérapeutique en apportant une aide à l'organisme.

Les saignées sont faites au minimum afin de permettre aux témoins de reconstituer leur formule sanguine.

Après la 2è injection, les cobayes 3 et 4 restent à peu près stationnaires; les cobayes 5 et 6 voient leurs globules diminuer, tandis que ceux des témoins augmentent.

A la 3è injection, les cobayes 3,4,5 et 6 continuent leur multiplication globulaire, mais celle-ci est beaucoup moins rapide que celle des témoins non injectés.

A la 4è injection, le processus est exactement le même qu'à la 3è. On décide d'arrêter les injections. Le prélèvement, en vue des analyses, est fait le I5 Décembre seulement, afin de voir si l'action freinatrice des injections persiste encore au bout de 5 jours. Les témoins, à cette date, ont presque retrouvé leur nombre de globules normal puisque le N°I a 4.900.000 hématies et le N°2 5.070.000 au m/m^3. Les cobayes ayant reçu du sérum normal ont 4.400.000 et 4.250.000 hématies. Les cobayes ayant reçu le sérum riche en anticorps n'avaient à cette date que 4.200.000 et 4.000.000 d'hématies. Les globules blancs étaient redescendus presqu'au taux normal du cobaye. Chez les témoins, ils étaient de I0.600 et I0.400 au m/m^3. Chez les cobayes injectés au sérum normal, ils étaient de II.000 et II.400, tandis que chez les cobayes injectés avec du sérum contenant des anticorps, ils étaient de I0.300 et II.600. Une semaine plus tard, on fait, de nouveau, une prise de sang et l'on constate que tous les cobayes ont retrouvé un taux normal d'hématies et de leucocytes. Le 23 Décembre, les cobayes témoins présentèrent un .....

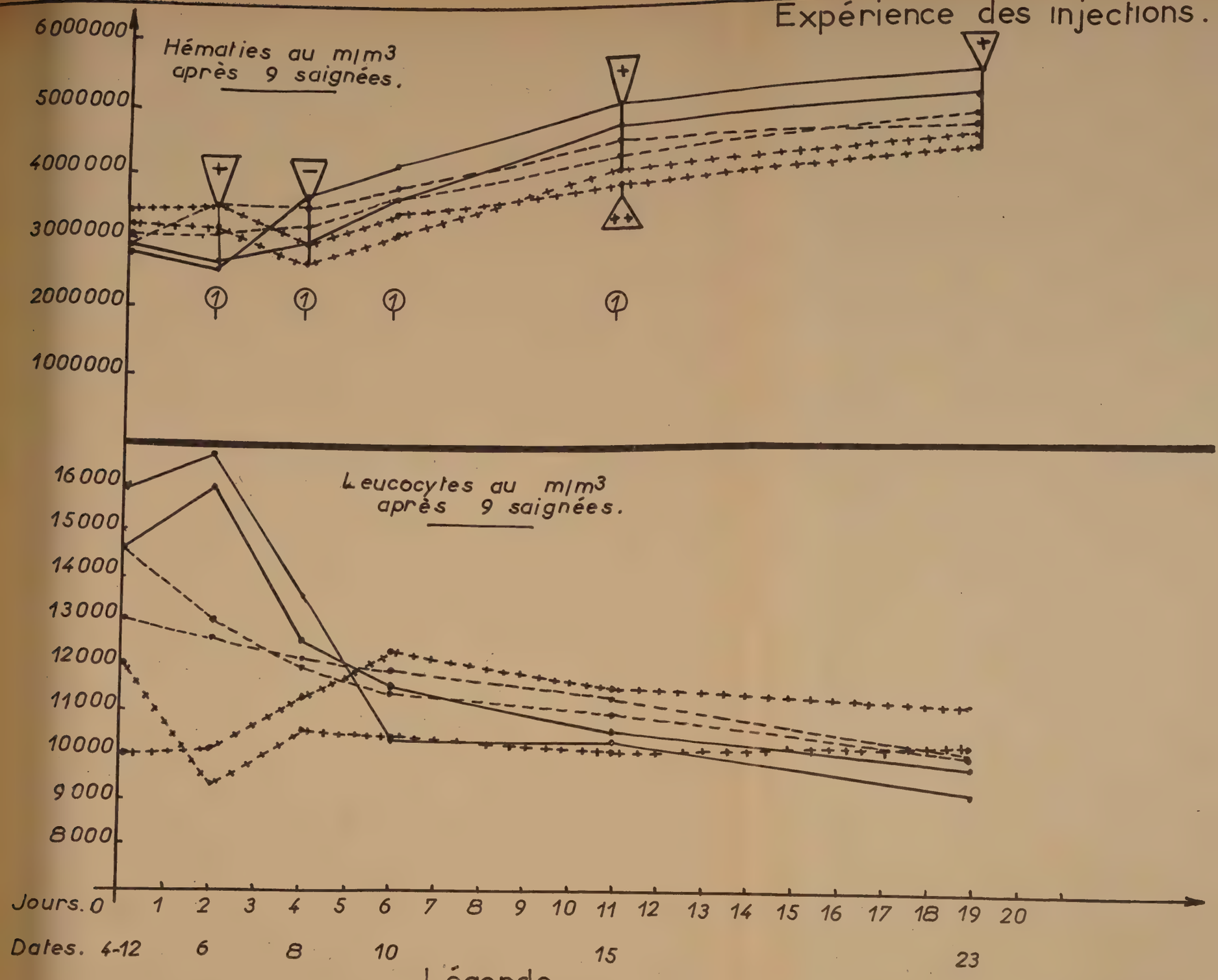
TABLEAU N° XIII

Courbe Correspondante : I

N° Cobayes	Nombre globules rouges et blancs après 9 saignées	Nombre globules rouges et blancs après 1 injection	Nombre globules rouges et blancs après 2 injections	Nombre globules rouges et blancs après 3 injections	Nombre globules rouges et blancs 5 jours après dernière injection	Nombre globules rouges et blancs après 18 jours arrêt	
	4.12.54	6.12.54	8.12.54	10.12.54	15.12.54	23.12.54	
Cobaye 1	Rouges 2.900.000	2.750.000	3.050.000	3.750.000	4.900.000	5.250.000	
	Blancs 14.600	16.000	12.600	11.600	10.600	9.800	
Sérologie	+ - - - - -	± - - - - -	- - - - - -	néant	+ - - - - -	+ - - - - -	Cobayes Témoins ne recevant aucune injection
Cobaye 2	Rouges 2.830.000	2.700.000	3.700.000	4.200.000	5.070.000	5.500.000	
	Blancs 16.000	16.800	13.600	10.400	10.400	9.200	
Sérologie	+ - - - - -	+ - - - - -	- - - - - -	néant	+ - - - - -	+ - - - - -	
Cobaye 3	Rouges 3.000.000	3.150.000	3.250.000	3.750.000	4.400.000	4.900.000	
	Blancs 14.600	13.000	12.000	11.500	11.000	10.000	
Sérologie	+ - - - - -	+ - - - - -	- - - - - -	néant	+ - - - - -	+ - - - - -	Cobayes Témoins recevant injection sérum normal
Cobaye 4	Rouges 2.900,000	3.500.000	3.600.000	3.800.000	4.250.000	4.800.000	
	Blancs 13.000	12.600	12.200	12.000	11.400	10.000	
Sérologie	+ - - - - -	± - - - - -	- - - - - -	néant	+ - - - - -	+ - - - - -	
Cobaye 5	Rouges 3.200,000	3.250.000	2.760,000	3.300.000	4.100.000	4.600.000	
	Blancs 12.000	9.400	10.600	10.500	10.300	10.200	
Sérologie	+ + - - - -	± - - - - -	- - - - - -	néant	+ - - - - -	+ - - - - -	Cobayes recevant des injections de sérum riche en anticorps
Cobaye 6	Rouges 3.400.000	3.500.000	3.040.000	3.500.000	4.000.000	4.500.000	
	Blancs 10.000	10.200	11.400	12.400	11.600	11.200	
Sérologie	+ + - - - -	+ - - - - -	- - - - - -	néant	+ + - - - -	+ - - - - -	

N.B. Sérologie : Dilutions des sérums - pur, $\frac{1}{2}$ $\frac{1}{4}$ $\frac{1}{8}$ $\frac{1}{16}$ $\frac{1}{32}$

Expérience des injections.



Légende

——— Cobayes témoins.

_____ Cobayes injectés avec du sérum normal.

++++ Cobayes injectés avec du sérum anticorps.

Sérologie.

① Injections de 1 cm3

sang plus riche en hématies, ensuite, vinrent ceux injectés avec du sérum normal de cobaye et, en dernier lieu, ceux injectés avec du sérum riche en anticorps. (voir Tableau XIII)

Après 9 saignées, les sérums de tous les cobayes fixèrent le complèment en présence de l'antigène I.

Après la première injection, les cobayes 3,4,5 et 6 accusent encore une réaction; celle-ci est franchement positive pour le N°3 et le N°6 et partiellement positive pour le N°4 et le N°5. Les témoins I et 2 furent l'un positif et l'autre partiellement positif.

Le 8 Décembre, c'est-à-dire, à la troisième injection, tous les cobayes étaient redevenus négatifs lorsque leur sérum était mis en présence d'extrait embryonnaire de poulet.

Le IO Décembre, on ne prend que 0,5 cm^3 de sang et la sérologie n'est pas faite afin de ne pas fausser les résultats par des saignées repétées et trop abondantes.

Le I5 Décembre, tous les cobayes,sans exception, ont un sérum qui fixe le complément. Or, ils sont en pleine remontée sanguine. Après un arrêt d'une semaine, ils sont encore examinés et trouvés positifs. A cette date, dans l'ensemble, ils ont atteint à peu près leur taux normal d'hématies et de leucocytes.

TABLEAU N° XIV

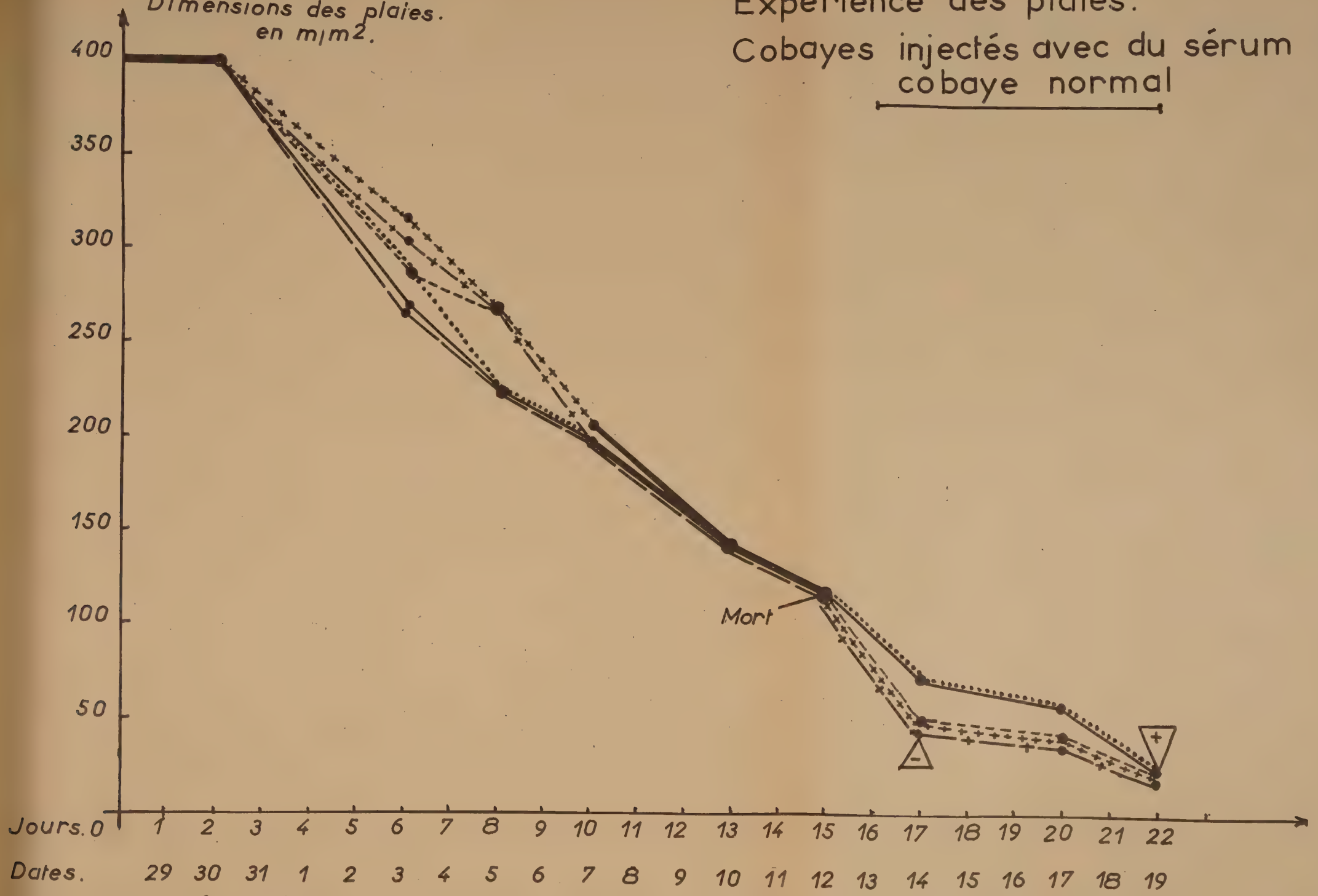
Temps de cicatrisation en injectant : 1 – sérum de cobaye
2 – sérum de cobaye + anticorps

Courbes Correspondantes : H.J.K.

	Date des examens.	Cobayes Témoins 1	2	3	4	5	6	Moyenne Surface	Cobaye + Injection sérum de cobaye neuf. 1 — 31	32	33	34	35	36	Moyenne Surface	Cobaye + Injection sérum cobaye riche en Anticorps. 2 — 37	38	39	40	41	42	Moyenne Surface
	28.12	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400
1ère Injection 1cm³	30.12	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400	400
2ème Injection 1cm³	3.1	360	360	360	360	360	360	360	270	289	320	289	306	270	290	360	360	360	360	360	360	360
3ème Injection 1cm³	5.1	300	144	196	180	198	156	176,8	225	270	270	225	270	225	247,5	270	225	225	270	270	225	247,5
4ème Injection 1cm³	7.1	360	120	182	154	170	132	151,6	196	210	210	196	196	196	200,6	225	225	225	225	225	225	225
5ème Injection 1cm³	10.1	300	25	144	64	91	35	71,8	144	144	144	144	144	144	144	225	225	225	225	225	225	225
6ème Injection 1cm³	12.1	225	25	132	49	64	25	59	120	120	120	120	120	120	120	210	210	210	mort	210	210	210
7ème Injection 1cm³	14.1	206	9	81	35	25	16	33,2	70	50	50	70	50	mort	58	168	160	168		160	168	164 8
	17.1	mort	0	77	16	12	9	23,6	60	40	40	60	40		48	140	120	120		120	130	126
	19.1		0	mort	10	0	10	5	25	25	25	25	25		25	25	25	25		25	25	25

Expérience des plaies.

Cobayes injectés avec du sérum de cobaye normal



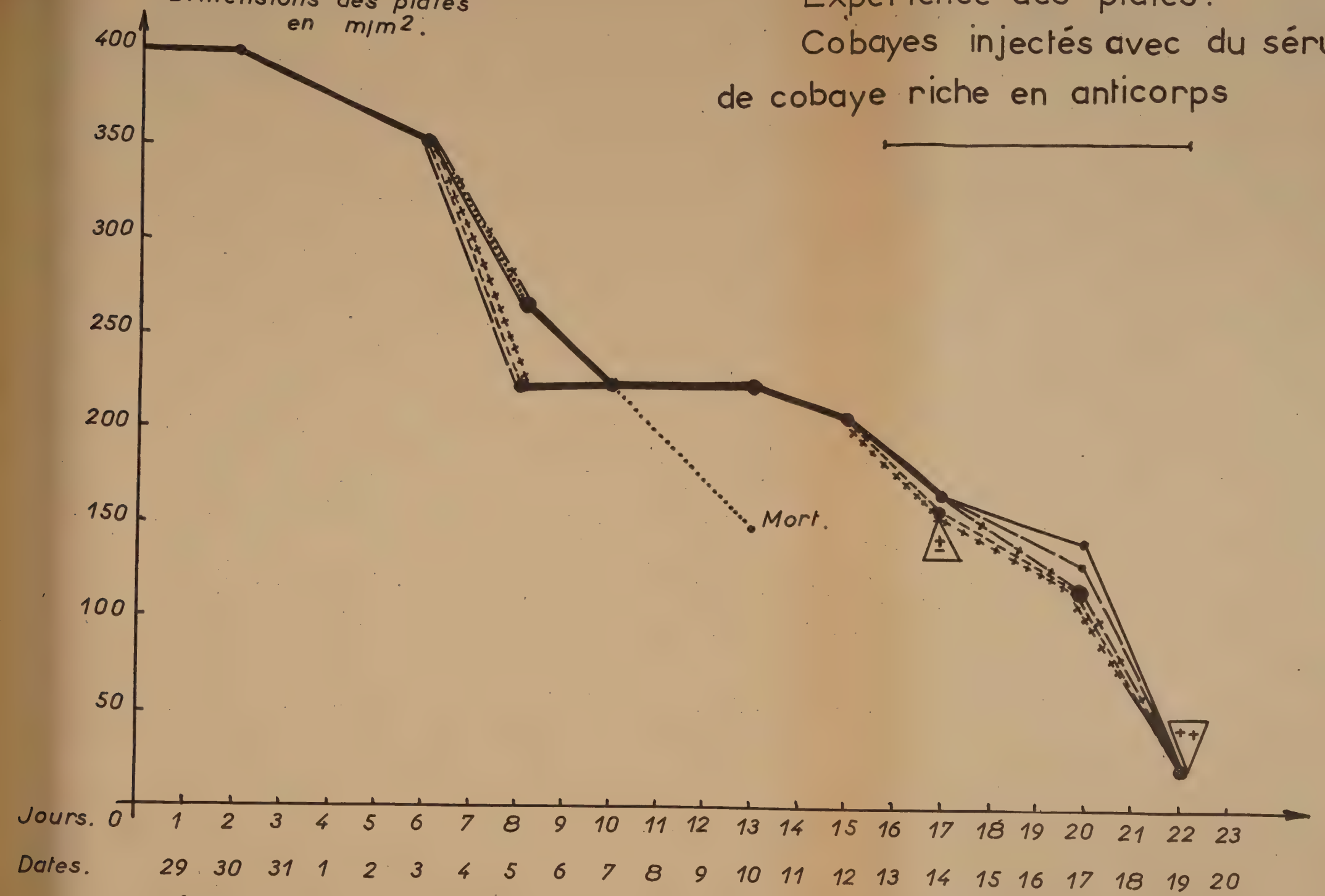
Légende.

- Cobaye n° 1
- – 2
- – 3
- – 4
- – 5
- – 6

+ Sérologie.

Expérience des plaies.

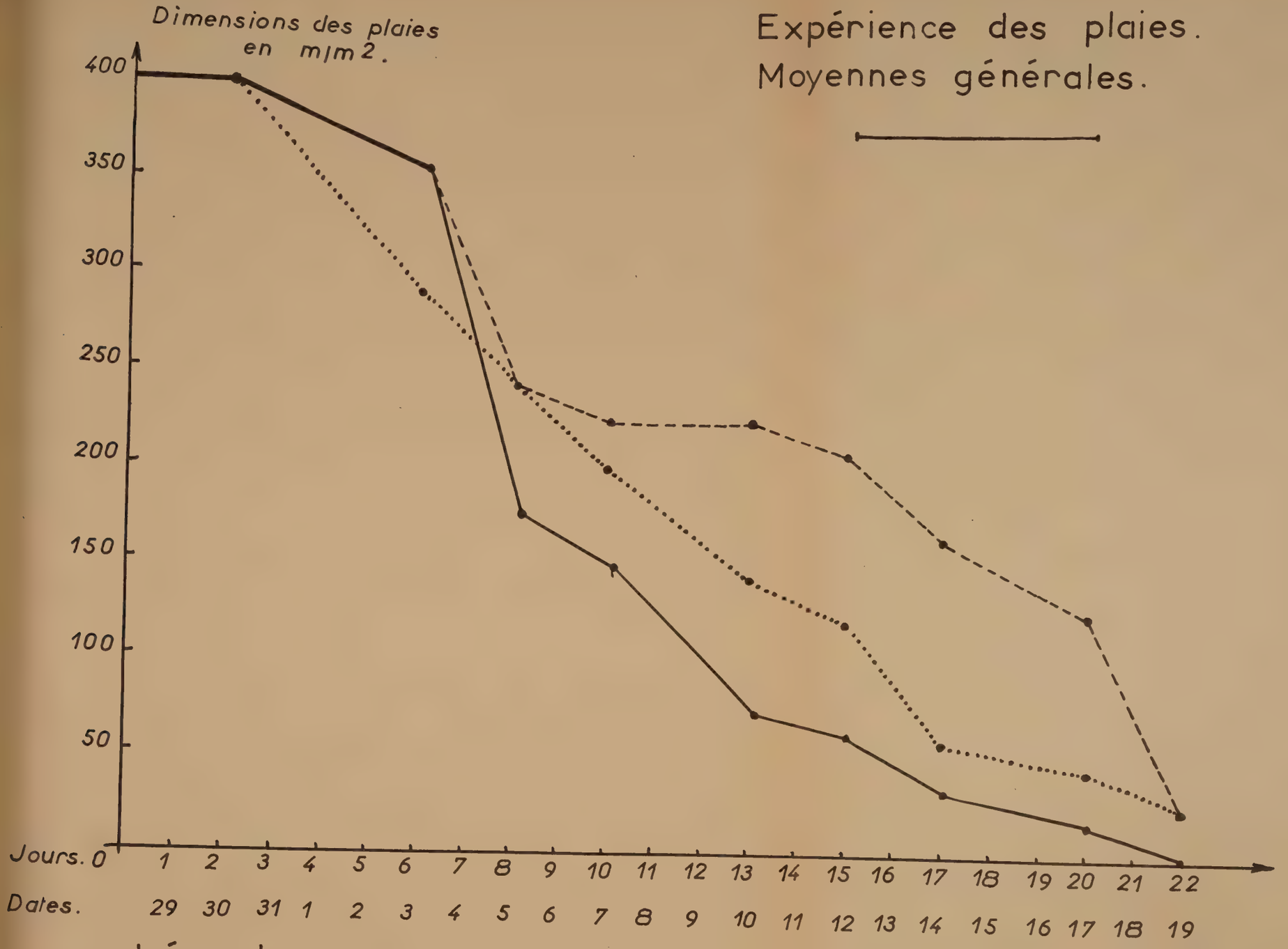
Cobayes injectés avec du sérum de cobaye riche en anticorps



Légende.

Cobaye n° 1 — Sérologie.
Cobaye n° 2
Cobaye n° 3
Cobaye n° 4
Cobaye n° 5
Cobaye n° 6

J



Expérience des plaies.
Moyennes générales.

Légende.

____ Cobaye normal.
_____ Cobaye injecté avec sérum de cobaye riche en anticorps anti-embryonnaire.
..... Cobaye injecté avec sérum normal. de cobaye.

2°) Influence des injections de sérum normal et de sérum riche en anticorps sur des cobayes sur lesquels on a pratiqué une biopsie cutanée.

Pour disposer cette expérience, il a fallu prendre I8 cobayes.

6 cobayes devaient avoir des ablations cutanées sans aucune injection, afin de nous servir de témoins.

6 cobayes étaient destinés à servir de deuxièmes témoins: c'est-à-dire à recevoir en injection, du sérum de cobaye normal.

Enfin, 6 autres recevaient parallèllement, le même jour, la même quantite de sérum de cobaye chargé cette fois d'anticorps antiembryonnaires (voir pour sa preparation et son titre page 68).

Tous les cobayes subirent une ablation de peau de 4 cm^2, le 28 Décembre; les temoins furent mis à part et les autres reçurent, pour le 2è lot, I cm^3 par voie sous-cutanée de sérum de cobaye normal et, pour le 3è lot, I cm^3 toujours par voie sous-cutanée, de sérum de cobaye riche en anticorps. Ces injections furent répétées le 30 Décembre, le 3 Janvier, le 5 et le IO Janvier. Les résultats sont consignés sur le tableau XIV.

Au 6è jour, les cobayes qui recevaient du sérum riche en anticorps, avaient le même taux de cicatrisation que les

témoins normaux. En revanche, les temoins recevant du sérum normal avaient une avance que l'on peut attribuer à l'apport de sérum frais.

Au 8è jour, tous les cobayes qui ont reçu des injections, prennent un retard important sur les cobayes témoins. Par contre, les cobayes injectés au sérum ordinaire et au sérum riche en anticorps presentent la même surface de cicatrisation.

A partir de ce jour, les cobayes recevant des anticorps cicatrisent moins vite leurs plaies que ceux qui ont reçu du serum de cobaye normal, qui, eux-mêmes, ont un taux de cicatrisation plus lent que les témoins sans injection.

Au 20è jour, la différence de surface de cicatrisation est moins importante entre les cobayes injectés, mais, reste à peu près aussi éloignée de la surface de cicatrisation des témoins. Enfin, le 22è jour, les cobayes injectés ont exactement la même surface de cicatrisation, tandis que les cobayes témoins sans injection ont une plaie 5 fois plus petite.

Au I5è jour, une expérience de sérologie fut faite et les résultats des cobayes injectés furent en tout point semblable à ceux obtenus avec les cobayes témoins à savoir :

Les sérums de 2 cobayes sur 5 (I étant mort à la suite des injections) furent négatifs et les sérums de 3 cobayes sur 5 présentèrent une reaction partiellement positive dans le tube où le sérum était à l'état pur.

T A B L E A U N° X I V bis

TAILLE DES PLAIES AU DEPART 400 mm^2

N° des COBAYES		Après 15 jours					Après 17 jours	Après 20 et 22 jours						Sérologie après 6 Semaines				
		Taille des plaies en mm^2	SEROLOGIE pur	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	Taille des plaies en mm^2	Taille des plaies en mm^2	Taille des plaies en mm^2	SEROLOGIE pur	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$	Plaie complétement guérie poil repoussé. pur	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{8}$
Cobayes Témoins	1	225	-	-	-	-	206	mort	mort									
	2	25	±	-	-	-	9	0	0	+	-	-	-	-	-	-	-
	3	132	±	-	-	-	81	77	mort	+	+	+	±	-	-	-	-
	4	49	-	-	-	-	35	16	10	+	±	-	-	-	-	-	-
	5	64	-	-	-	-	25	12	0	+	±	-	-	-	-	-	-
	6	25	±	-	-	-	16	9	10	+	±	-	-	-	-	-	-
Cobayes injectés avec sérum normal de cobaye.	7	120	±	-	-	-	70	60	25	+	±	-	-	-	-	-	-
	8	120	-	-	-	-	50	40	25	+	±	-	-	-	-	-	-
	9	120	±	-	-	-	50	40	25	+	±	-	-	-	-	-	-
	10	120	-	-	-	-	70	60	25	+	±	-	-	-	-	-	-
	11	120	±	-	-	-	50	40	25	+	±	-	-	-	-	-	-
	12	120	-	-	-	-	mort	mort	mort									
Cobayes injectés avec sérum de cobaye riche en anticorps.	13	210	±	-	-	-	168	140	25	+	+	-	-	-	-	-	-
	14	210	-	-	-	-	160	120	25	+	+	-	-	-	-	-	-
	15	210	±	-	-	-	168	120	25	+	+	-	-	-	-	-	-
	16	mort																
	17	210	±	-	-	-	160	120	25	+	+	-	-	-	-	-	-
	18	210	-	-	-	-	168	130	25	+	+	-	-	-	-	-	-

Au 20è jour, nous trouvions : pour les cobayes injectés avec du sérum de cobaye ordinaire, que les sérums de tous les cinq fixaient le complèment dans le tube où le sérum était pur et la reaction était partiellement positive dans le tube de sérum dilué au I/2 pour devenir ensuite négative.

Pour les cobayes injectés avec du sérum riche en anticorps, les sérums de trois étaient positifs jusqu'à la dilution au I/2 et ensuite négatifs. Deux d'entre eux étaient positifs à l'état pur seulement.

Pour les temoins normaux , les sérums des cinq cobayes avaient une réaction positive et le sérum de l'un d'entre eux fixa le complèment jusque dans la dilution au I/4 (Tableau XIV bis)

X

X X

L'action des injections sur un cobaye opéré d'une ablation de peau freine la cicatrisation. Le sérum riche en anticorps a une action plus intense que le sérum normal. Cette action est passagère puisqu'il suffit d'avoir arrêté 5 jours les injections pour que les cicatrisations redeviennent égales.

Dans cette expérience, on peut imaginer que l'on est en présence d'une réaction antigène-anticorps in vivo.

L'animal possédant un antigène correspondant à sa multiplication cellulaire(ici, de cicatrisation), verrait l'activité de son antigène bloquée en partie par l'apport d'anticorps, ce qui expliquerait l'action freinatrice des sérums homologues riches en anticorps sur la vitesse de réparation des plaies.

Recherche des anticorps dans divers sérums thérapeutiques

Pour cet essai, nous n'avons eu à notre disposition que les sérums suivants :
Sérum de cheval anti-gonococcique
Sérum de cheval anti-streptococcique
Sérum de cheval anti-staphylococcique
Sérum humain de convalescent de poliomyélite
Sérum humain de convalescent de fracture
Sérum humain de convalescent des oreillons.

Les sérums des convalescents devraient, dans de nombreux cas, d'après notre hypothèse, contenir des anticorps.

Le sérum de cheval anti-gonococcique etant très fortement anti-complèmentaire, fut essayé en présence des antigènes N°I, N°I_2 et N°II dans une réaction de CALMETTE et MASSOL. Le sérum s'étant révélé très positif, nous avons pensé qu'il serait possible de le diluer et de l'examiner par notre méthode habituelle, celle de Kolmer.

Le sérum fut dilué au 1/10 et titré, ensuite, dans une réaction de Kolmer. Il nous fut possible, ainsi, d'obtenir une réaction positive dans les dilutions à 1 pour 80.

Nous n'avons jamais pu déceler d'anticorps ni dans le sérum anti-streptococcique, ni dans le sérum anti-staphylococcique, pas plus que dans le liquide d'ascite.

TABLEAU N° XV

	Antigène I	Antigène I_2	Antigène Forssman	Antigène VI	Antigène VI_2
Serum de cheval antigonococcique	$+\frac{1}{8}$	$+\frac{1}{8}$	-	$+\frac{1}{8}$	$+\frac{1}{8}$
Serum antistreptococcique	-	-	-	-	-
Serum antistaphylococcique	-	-	-	-	-
Serum convalescent Poliomyélite	$+\frac{1}{2}$	$+\frac{1}{2}$	-	$+\frac{1}{2}$	$+\frac{1}{2}$
Serum convalescent antifracture	$+\frac{1}{2}$	$+\frac{1}{2}$	-	$+\frac{1}{4}$	$+\frac{1}{4}$
Serum convalescent oreillons	+ pur	+ pur	-	+ pur	+ pur

Par contre, le sérum de convalescent de poliomyélite nous donna une réaction positive jusque dans la dilution I pour 2. Et le serum de convalescent de fracture fixa le complèment jusque dans le tube où le sérum était dilué à 1 pour 2 en presence des antigènes I et I_2 et I pour 4 en présence de l'antigène à l'extrait de thymus.

Le sérum de convalescent d'oreillons ne fixa jamais au-delà du tube où le sérum était pur.

Le tableau N°XV illustre ces résultats.

Cette expérience démontre, une fois de plus, que les anticorps que nous décelons avec nos antigènes sont différents des anticorps Forssman.

Il nous fut, en effet, impossible de mettre en évidence dans les sérums de convalescents dont nous avons pu disposer, la présence d'anticorps en employant pour les déceler l'antigène de Forssman.

Les sérums que nous avions à notre disposition étaient tous très anciens. Faudrait-il en conclure que la disparition des anticorps pourrait avoir lieu à la glacière puisque les sérums anti-streptococciques et anti-staphylococciques ne nous donnèrent aucun résultat alors qu'il est possible de faire apparaître des anticorps dans le sérum de cobayes dont les plaies sont infectées avec des staphylocoques ? Peut-être, plutôt, faut-il penser que c'est la cicatrisation même, et la destruction cellulaire qui l'accompagne inévitablement et qui est agravée par certaines affections microbiennes, qui est responsable de l'apparition des anticorps, et non pas les germes eux-mêmes en tant qu'antigènes.

CHAPITRE V

ETUDE DES SERUMS DE FEMMES ENCEINTES ET DE SERUMS NORMAUX

Une prise de sang de IO cm^3 fut faite sur des femmes enceintes dont l'âge s'échelonna de I8 à 43 ans.

Après avoir décollé le caillot sanguin du prélèvement, le sérum était décanté, puis centrifugé et inactivé 30 minutes à 56°C.

Notre antigène était un extrait d'embryon de poulet préparé suivant la technique indiquée au chapitre I page I2. Chaque embryon doit être additionné de 5cm^3 de liquide de Ringer. Mais, ces expériences ayant été faites dès le début de nos recherches actuelles, nous ne standardisions pas encore l'antigène I Par la technique de titrage de LEPINE et SOHIER. Pour avoir, cependant, un produit toujours constant d'un jour à l'autre, nous en fixions la turbidité. Pour celà, l'extrait était placé dans la cuve verticale d'un électrophotmètre de Meunier, ce qui permet de faire un examen turbidimétrique précis. Avec l'écran jaune, nous avons toujours ramené notre antigène d'extrait embryonnaire de poulet de I2 jours au chiffre de I87 du tambour de l'appareil. L'extrait aqueux ainsi obtenu était en général employé ensuite sans dilution (voir titrage de l'antigène page I2).La partie de cet extrait ramené préalablement à la turbidité voulue et précipitée par l'acide acétique constitue l'antigène I_2.

La technique sérologique utilisée fut celle de Kolmer; les sérums qui s'avéraient anti-complémentaires étaient obligatoirement recommencés le lendemain en utilisant la réaction de CALMETTE-MASSOL.

Sur 447 sérums de femmes enceintes examinés, dans un premier temps, nous avons trouve 66 sérums négatifs et 381 sérums positifs qui contenaient des anticorps capables de former avec l'antigène un complexe pouvant fixer le complément et, par suite, empêcher l'hémolyse. Le pourcentage de négatifs était donc de 14%.

Ayant alors remarque que certains sérums très frais étaient très souvent négatifs, nous avons dosé, avant chaque expérience, l'hémolysine naturelle qu'ils renfermaient et nous avons constaté que la majeure partie des serums négatifs étaient justement ceux qui étaient très riches en hémolysine naturelle. Pour faire disparaître cet excès, nous avons mis ensuite ces sérums à la glacière pendant un délai variant de 24 heures à 48 heures.

Au bout de ce temps, les sérums ne contenaient plus d'hémolysine ou seulement quelques traces, mais ils étaient devenus très souvent anti-complémentaires et nous avons dû employer la technique de CALMETTE-MASSOL qui est un peu moins sensible que la réaction de Kolmer.

Ayant constaté aussi que la suppression des hémolysines naturelles avait l'avantage de supprimer la plupart des sérums partiellement positifs de la réaction pour les rendre

nettement positifs, nous avons, par la suite, avant chaque expérience, recherché les hémolysines.

Dans un tube à hémolyse nous placions :

Eau physiologique	: 0,10 cm^3
Sérum inactivé	: 0,05 cm^3
Alexine titrée au taux du jour	: 0,40 cm^3
Globules rouges de mouton à 2%	: 0,10 cm^3

Le tout était porté au bain-marie à 37°C pendant une demi-heure.

Les tubes dans lesquels s'était produite une hémolyse correspondaient à des sérums riches en hémolysine naturelle.

Pour éliminer la cause d'erreur provoquée par cet excès d'hémolysine, nous avons employé, enfin, la technique de H.JOUY :

Le sérum, après avoir été inactivé pendant 30 minutes à 56°C, est traité par une goutte de purée de globules rouges de mouton pour I cm^3 de sérum environ.

Après mélange, on agite 5 minutes à l'agitateur de Kahn à 275 secousses par minute environ. On centrifuge ensuite et l'on obtient un sérum clair privé de toute trace d'hemolysine et qui n'est pas devenu anti-complémentaire.

Cette technique s'est révélée excellente, très supérieure en tout cas au vieillissement au frigorifique qui a l'inconvénient grave d'augmenter le pouvoir anti-complémentaire. Nous l'avons donc appliquée dans tous les cas de sérum riche en hémolysine anti-mouton naturelle.

Le pourcentage des sérums négatifs chez les femmes enceintes tomba alors dans nos essais à 4%. I87 sérums furent ainsi examinés dans une nouvelle série d'expériences; I79 se montrèrent positifs et 8 négatifs.

Parmi ces sérums négatifs, notons un sérum d'une femme âgée de 43 ans.

Devant ces résultats massifs et caractéristiques nous nous sommes demandé si la positivité était en rapport :

1°) avec l'âge de la gestation

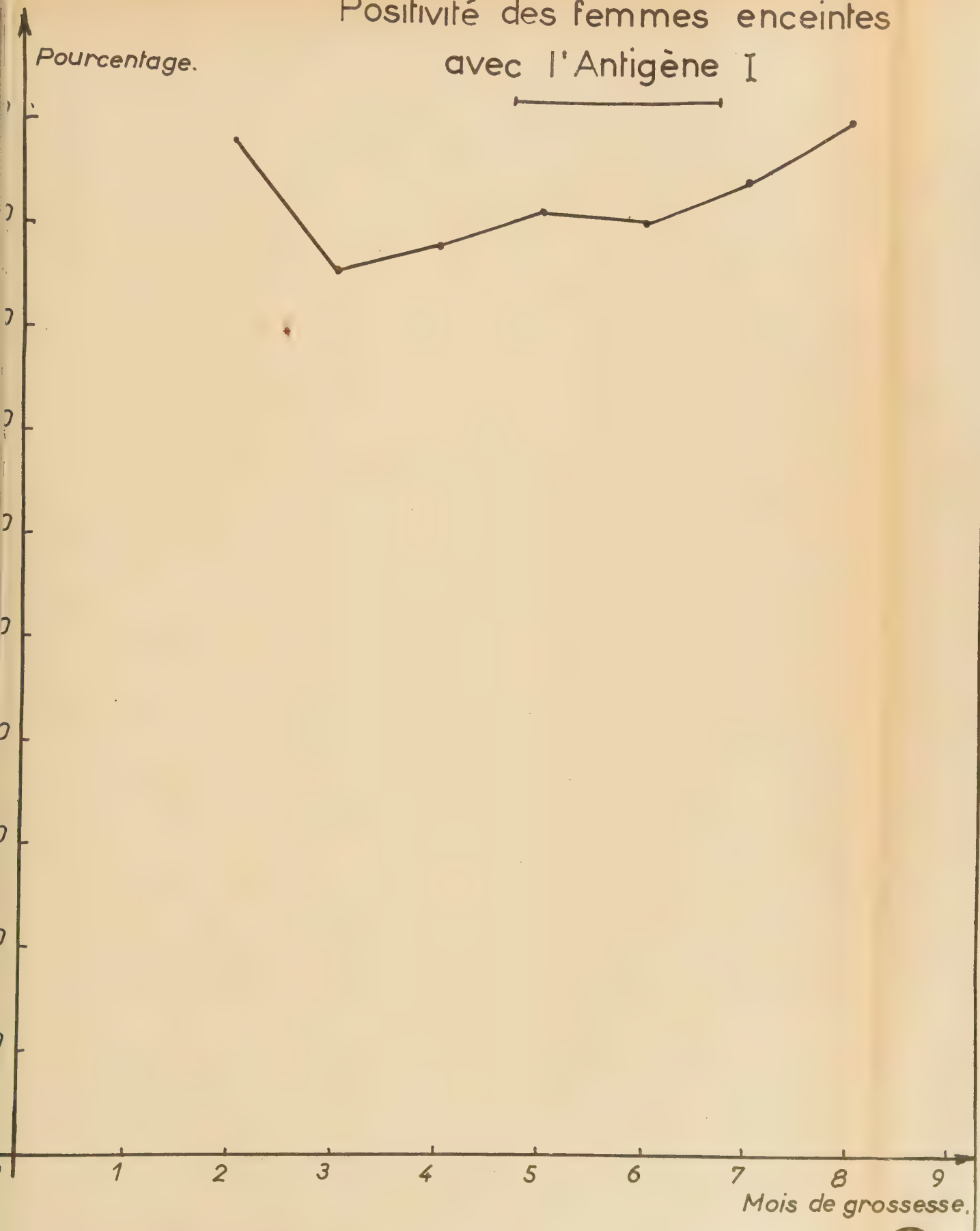
2°) avec l'âge de la femme

3°) avec son groupe sanguin.

I°) Rapport avec l'âge de la gestation

Nos résultats ne permettent pas de faire une loi sur la fréquence de la positivité par rapport à l'âge de la grossesse. Nous pouvons, cependant, à titre indicatif, indiquer que dans nos essais pour les grossesses de :

Positivité des femmes enceintes avec l'Antigène I



2 mois les résultats furent positifs dans 98%
3 mois " " " " " 86%
4 mois " " " " " 88%
5 mois " " " " " 92%
6 mois " " " " " 91%
7 mois " " " " " 95%
8/9 mois" " " " " 98%
(voir courbe M')

2°) Rapport avec l'âge de la femme

Les âges ne nous apportent aucun renseignement, les femmes enceintes se trouvant en général dans la zone des âges assez riches en anticorps témoin d'une cytopoïèse où les multiplications cellulaires de l'organisme sont encore abondantes.

Mais la proportion de sérums positifs, constatés en dehors de la grossesse, est beaucoup plus faible que pendant la période de première jeunesse où l'on peut dire que les multiplications cellulaires importantes sont quasi-constantes.

3°) Rapport avec les groupes sanguins

Les sérums de femmes enceintes que nous avons pu nous procurer furent très divers.

Nous avons, bien entendu, examiné des échantillons appartenant aux quatre groupes sanguins A-B-O et AB et tous

nous donnèrent des réactions positives sans distinction de groupe.

Sur 81 sérums, dont les groupes furent déterminés, il y en eut :

34 du groupe A où 30 furent positifs et 4 négatifs
40 " " O où 32 furent positifs et 8 négatifs
4 " " B où 4 furent positifs
3 " " AB où 3 furent positifs

Le groupe, qui ne possède pas l'anticorps de FORSSMAN; s'est montré autant que les autres riche en anticorps correspondants à nos antigènes I et I_2.

Etude comparée des sérums de femmes enceintes vis-à-vis des antigènes I et I_2 et de l'antigène F

Les sérums des femmes enceintes du groupe A furent tous étudiés parallèlement avec nos antigènes I et I_2 et un antigène de FORSSMAN préparé suivant la technique indiquée au chapitre I page 28; mais, pour plus de simplicité, en ce qui concerne le dernier antigène, nous l'avons préparé à partir d'un rein de cobaye; celui-ci, complètement débarassé de sa graisse et de sa peau, est broyé à la presse de Borrel. Il est additionné de $10cm^3$ d'eau physiologique ordinaire puis mis en tube à centrifuger et porte 3/4 d'heure au bain marie bouillant On ajoute des perles de verre stériles et on agite violemment; on décante en tubes à hémolyse, on rince les perles avec de l'eau physiologique ordinaire. (L'eau physiologique phéniquée indiquée dans la technique originale fut abandonnée, l'acide

phénique nous donnant très souvent des témoins antigènes anti-complémentaires).

Après avoir bien mélangé l'eau physiologique de rinçage avec la première partie décantée, on centrifuge dans des tubes à hémolyse et le liquide décanté est mis à la glacière jusqu'à son emploi comme antigène.

Tous nos sérums du groupe A s'avérèrent négatifs en présence de l'antigène FORSSMAN, tandis que ceux du groupe B et O étaient positifs.

Cette expérience démontre que nos antigènes embryonnaires complets ou précipités sont bien différents de l'antigène FORSSMAN, ce qui explique que les cas de positivité de la réaction de fixation du complèment ne soient jamais liés aux groupes sanguins.

Nous arrivons donc à la conclusion que toutes les femmes en état de gestation possèdent pratiquement des sérums riches en anticorps correspondant aux antigènes I et I_2.

Il nous restait donc à savoir si les individus normaux possédaient également ces mêmes anticorps.

Etude de sérums normaux vis-à-vis des antigènes I et I_2

Pour éviter toute cause d'erreur, les sérums humains que nous avons choisis étaient des sérums d'homme autant que

possible connus comme non malades, ou tout au moins ne présentant pas d'affection qui entraînat une grosse prolifération cellulaire. La plupart des sangs étaient prélevés au moment des examens prénuptiaux.

Pour les sérums de personnes âgées, la plupart nous ont été fournis par le centre hospitalier régional de Caen (Service des Vieillards souvent rhumatisants) et nous adressons nos bien vifs remerciements au Docteur HISSARD qui nous les a procurés ainsi que pour l'intérêt qu'il a pris à cette thèse. Certains sérums provenaient également de malades ayant desaffections supposées bénignes.

Les prélèvements étaient généralement de 9 à IO cm^3 environ. Après avoir décollé le caillot, les sérums étaient centrifugés et décantés , puis, nous les portions 30 minutes à 56°C.

Après un dosage préalable de l'hémolysine naturelle, nous traitions les sérums riches en cette substance anti-mouton par le procédé indiqué au début de ce chapitre page 80 Les sérums étaient, ensuite, mis en présence des antigènes I et I_2 en vue d'une fixation du complèment (procédé Kolmer).

Les enfants que nous avons pu examiner se sont échelonnés de I à IO ans et ont tous donné une réaction positive à l'exception d'un serum d'enfant de 9 ans dont le sérum ne fixa pas le complèment. Le nombre des sérums examinés fut de 25; le pourcentage des sérums positifs de 96%.

TABLEAU N° XVI

Titrage des sérums d'enfants de 0 à 10 ans en présence des Antigènes N° I et N° I_2.

NOMS	AGE	SEXE	ANTIGENE N° I						ANTIGENE N° I_2					
			pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	pur	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
M...	7 ans	♀	+	+	+	±	−	−	+	+	+	±	−	−
D...	7 ans	♂	+	+	+	−	−	−	+	+	−	−	−	−
J...	9 ans	♂	+	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−	−
G...	9 ans	♀	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
R...	4 ans	♀	+	+	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−
D...	6 ans	♂	+	+	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−
A...	9 ans 1/2	♂	+	+	+	±	−	−	+	+	+	−	−	−
J...	2 ans	♀	+	+	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−
M...	15 mois	♀	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	−
R...	7 ans	♀	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−
Z...	5 ans	♀	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−
R...	5 ans	♀	+	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−	−
B...	3 ans	♂	+	+	+	+	−	−	+	+	+	±	−	−
B...	4 ans	♀	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−
Y...	3 ans	♀	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−
A...	7 ans	♂	+	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−	−
C...	5 ans	♂	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−
B...	2 ans	♂	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−
M...	8 ans	♀	+	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−	−
J...	6 ans	♀	+	+	+	+	±	−	+	+	+	+	±	−
Y...	4 ans	♂	+	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−	−
G...	6 ans	♀	+	+	+	+	−	−	+	+	+	−	−	−
B...	9 ans	♀	+	+	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−
R...	5 ans	♂	+	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−	−
M...	7 ans	♀	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	−	−

Antigène I = Extrait total aqueux d'extrait embryonnaire de poulet.

Antigène I_2= Extrait total aqueux d'extrait embryonnaire de poulet précipité par l'acide acétique.

Alors que nous n'avions jamais pu obtenir dans un titrage pour des sérums d'adultes un taux d'anticorps dépassant la dilution I pour 8, et ceci très rarement, car le plus souvent les sérums d'adultes ne fixent le complèment que jusque dans les tubes où la dilution du sérum est au I/4, pour les jeunes enfants, la réaction fut souvent positive jusque dans les dilutions au 1/16è et était encore parfois partielle au 1/32è. (voir tableau n°XVI).

De IO à 20 ans : Le pourcentage des sérums positifs était de 85% et de I5% pour les négatifs (35 sérums examinés).

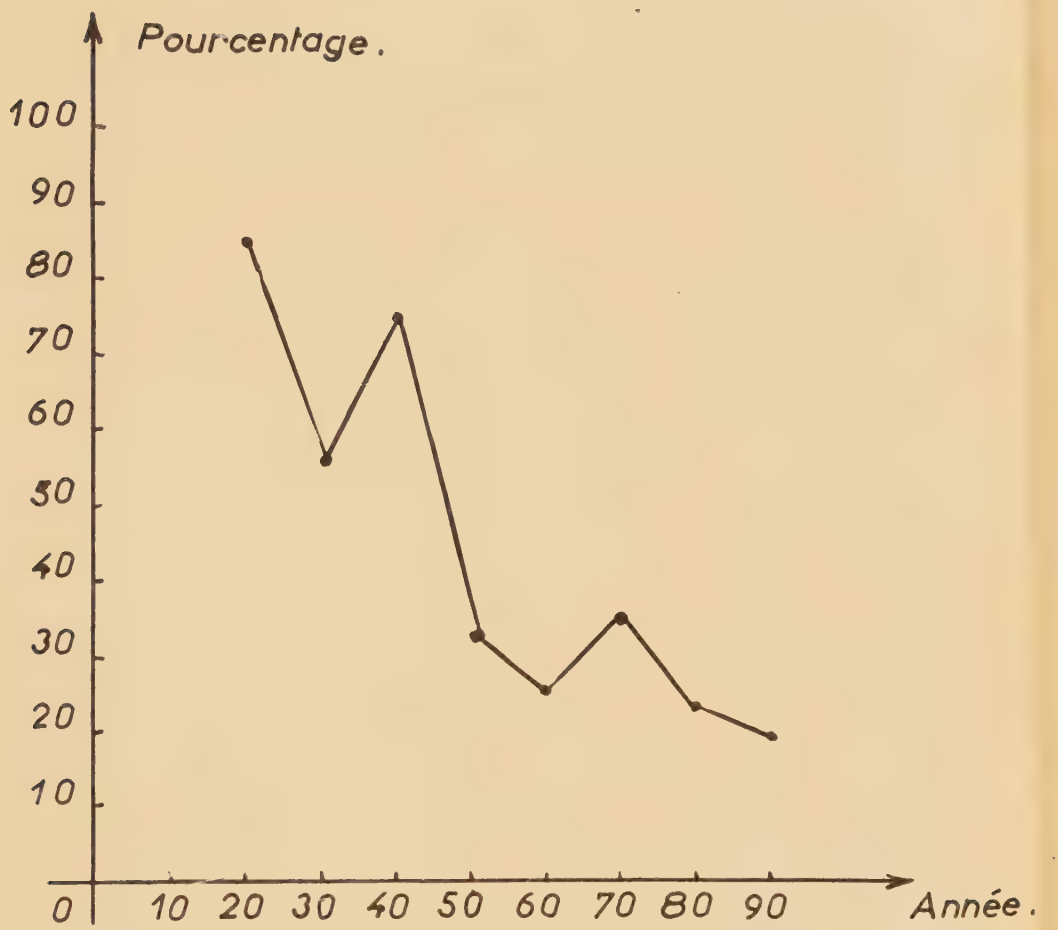
De 20 à 30 ans : Le pourcentage n'est plus que de 56% pour les positifs et de 44% pour les négatifs (88 sérums examinés).

De 30 à 40 ans : Le pourcentage des sérums positifs est un peu relevé, il atteint 75% (40 sérums examinés).

Cette augmentation du pourcentage positif peut s'expliquer de deux manières :

Ou bien notre nombre de sérums est insuffisant par rapport à la série de 20 à 30 ans, ou cette période de la vie serait sujette à des multiplications cellulaires, au moins temporaires, plus intenses.

Positivité des sérums normaux avec l'Antigène I. en fonction de l'âge de la vie.



Légende.

___ Positifs.

De 40 à 50 ans : Nous avons une chute nette : 33% de positifs et 66% de négatifs (36 sérums examinés).

De 50 à 60 ans : La baisse des anticorps s'accentue : 25% de positifs et 75% de négatifs (40 sérums examinés).

De 60 à 70 ans : Léger relèvement : 35% de positifs et 64,5 % de négatifs (28 sérums examinés). Pour cette période de la vie, nous n'avons disposé que de peu de sérums et le pourcentage peut être facilement faussé par les maladies non caractérisées et assez fréquentes à cet âge.

De 70 à 80 ans : Chute très nette : 24% de positifs et 76% de négatifs (25 sérums examinés).

De 80 à 92 ans : 20% de positifs et 80% de négatifs (20 sérums examinés).

Ce pourcentage peut s'exprimer par une courbe donnant une vue d'ensemble sur la chute des anticorps témoins des multiplications cellulaires en fonction de l'âge de la vie (courbe N').

Cette chute devrait, en principe, sur des sujets absolument normaux, être assez régulière sur des tranches de IO années. Cependant, nous allons démontrer plus loin que,

si ces anticorps existent précocement dans le sang des sujets cancéreux, il se peut que certains résultats de nos sérums prétendus "normaux", soient faussés par manque de renseignements cliniques sur les individus et qu'il s'agisse, en fait, de futurs cancéreux, non encore soupçonnés. Peut-être, s'agit-il, aussi, d'autres affections encore insuffisantes mais où les mitoses sont déjà augmentées.

CHAPITRE VI

Etude de différents types d'ANTIGENES EMBRYONNAIRES

Toutes les expériences dont nous venons de parler précédemment ont été conduites surtout avec de l'extrait embryonnaire de poulet de I2 jours fabriqué comme nous l'avons indiqué page II.

Elles ont éte faites comparativement avec l'antigène frais complet et lafraction antigènique précipité par l'acide acétique. Les résultats obtenus avec ces deux antigènes ont toujours été absolument comparables (voir tableau N°VI, chapitre III page 36).

Avant d'abandonner cet antigène, nous signalerons que, sur le culot du broyage d'extrait embryonnaire de poulet, nous avons essayé de faire une deuxième extraction de protéïnes avec un rinçage du culot de broyage. La technique fut la même que celle employée pour la première extraction (Chapitre I - page 2). En employant ce rinçage comme antigène, nous n'avons jamais pu obtenir de fixation du complément en le mettant en présence de sérums vérifiés positifs avec l'antigène I habituel.

ETUDE DES DIFFERENTES PARTIES DE L'EMBRYON DE POULET -

Les différentes parties de l'embryon sont actives à des degrés très différents.

Nous avons réalisé des extraits aqueux à partir des membranes embryonnaires du cerveau, du coeur, des muscles, du foie, des poumons, des reins, des yeux.

Les organes tels que le cerveau, le foie, les yeux, étaient broyés par agitation dans un tube à centrifuger en présence de billes de verre. Les organes plus résistants (membranes embryonnaires) ou plus petits (coeur) étaient broyés au mortier stérile en présence de sable stérile.

Les broyats étaient repris par du liquide de Ringer dans les proportions suivantes :

I cerveau d'embryon de I2 jours par cm^3 de liquide de Ringer
4 coeurs - - - de liquide de Ringer
2 reins - - - de liquide de Ringer
I membrane - - - de liquide de Ringer

Pour les autres organes, prélèvement de I g par cm^3 de liquide de Ringer.

Après centrifugation pendant I5 minutes à 5000 tours par minute, le liquide surnageant était employé comme antigène aqueux. Mieux encore, après avoir été précipité par l'acide acétique au I/I0 suivant la technique indiquée au chapitreIII page 34, le précipité était alors remis en sus-

T A B L E A U N° XVII

Tableau des 30 sérums + aux extraits totaux : Embryon de Poulet

FEMMES ENCEINTES	AGE GESTATION	E.E.Poulet	Peau de la cuisse	Poumon	Foie	Cerveau	Yeux	Rein	Coeur
18 ans	3 mois	+	+	+	+	+	-	-	-
19 ans	4 mois	+	+	+	+	+	+	+	-
20 ans	3 mois	+	+	+	+	+	+	-	-
20 ans	5 mois	+	+	+	+	+	-	-	-
21 ans	4 mois	+	+	+	+	-	+	-	-
21 ans	6 mois	+	+	+	+	+	+	+	-
22 ans	3 mois	+	+	+	+	-	-	-	-
23 ans	5 mois	+	+	+	-	+	+	-	-
23 ans	7 mois	+	+	+	+	-	+	-	-
24 ans	8 mois	+	+	+	+	+	-	+	-
25 ans	3 mois	+	+	+	-	+	+	-	-
25 ans	4 mois	+	+	+	+	±	-	-	-
26 ans	5 mois	+	+	+	+	-	+	+	-
26 ans	7 mois	+	+	+	+	+	-	-	-
27 ans	6 mois	+	+	+	+	+	+	+	-
27 ans	7 mois	+	+	+	+	+	+	-	-
28 ans	3 mois	+	+	+	-	-	+	+	-
29 ans	3 mois	+	+	+	+	-	-	-	-
30 ans	4 mois	+	+	+	+	-	+	+	-
31 ans	4 mois	+	+	+	-	+	+	-	-
32 ans	4 mois	+	+	+	+	+	-	+	-
33 ans	5 mois	+	+	+	+	+	+	-	-
34 ans	6 mois	+	+	+	+	+	+	+	-
35 ans	6 mois	+	+	+	+	+	-	+	-
36 ans	8 mois	+	+	+	-	-	+	-	-
37 ans	3 mois	+	+	+	+	+	-	+	-
38 ans	4 mois	+	+	+	+	+	+	-	-
39 ans	5 mois	+	+	+	-	-	-	+	-
40 ans	6 mois	+	+	+	+	+	+	-	-
41 ans	8 mois 1/2	+	+	+	+	+	-	-	-

pension pour constituer un autre type d'antigène.

Rappelons, comme nous l'avons indiqué précédemment que les chiffres romains qui désignent l'origine de l'anticorps complet pourront être suivis de l'indication du nom de l'organe seul retenu lors de fractionnement.

Les essais comparatifs furent principalement faits sur des sérums de femmes enceintes, qui, ainsi que nous l'avons vu, ont des sérums positifs dans une très grande proportion.

Pour l'étude de chaque type d'antigène, à titre de témoin, une réaction en présence de l'antigène I était également réalisée.

Pour 100% de résultats positifs obtenus avec de l'extrait d'embryon total (N°I), nous avons obtenu, pour les mêmes sérums, mis en présence d'organes variés les résultats suivants : (voir tableau N°XVII)

Peau de la cuisse de l'embryon de poulet.....100%
Poumon de l'embryon de poulet.....100%
Foie de l'embryon de poulet..... 80%
Cerveau de l'embryon de poulet..... 70%
Yeux de l'embryon de poulet..... 60%
Reins de l'embryon de poulet..... 50%
Coeur de l'embryon de poulet..... 0%

VARIATIONS DE L'ESPECE D'EXTRAIT EMBRYONNAIRE -

Nous avons etudié, parallèlement, des extraits d'autres embryons, de Bovins, de Rats, de Souris et de Cobayes.

Nous rappelons que le poulet et la souris sont rangés dans le groupe "Cobaye" tandis que le Bovin et le Rat le sont dans le groupe "Lapin", c'est-à-dire celui qui possède les anticorps de FORSSMAN.

1°) Embryon de Bovin.

Un utérus gravide est prélevé à l'abattoir. L'embryon doit être au maximum âgé de 2 mois, pour donner un bon antigène.

L'organe est lavé et brossé très énergiquement avec du savon, rincé abondamment, puis désinfecté à la teinture d'iode sur toute la surface et déposé sur un plateau flambé préalablement à l'alcool.

La corne gravide est incisée d'un seul coup sur presque toute la longueur. Les lèvres de la plaie sont solidement maintenues par des pinces. Elles sont relevées au maximum et écartées. A l'aide d'une pipette à boule, on prélève un peu de liquide amniotique dont on éprouvera la stérilité. Puis le chorion et l'amnios sont ouverts avec de nouveaux instruments. On coupe le cordon sans le pincer au préalable, alors que le foetus baigne encore dans son liquide amniotique. Ainsi libéré, le foetus est saisi d'une main par l'extrémité des membres et extrait avec precaution de l'utérus et posé sur un autre plateau stérile. Il est immédiatement introduit

sous la hotte en plexiglass qui a été stérilisée par émission de rayons U.V.

Dans la hotte sont disposés des séries de boîtes de Pétri stériles contenant 25 cm^3 de liquide de Ringer. L'embryon est ouvert sur toute sa longueur.

Ensuite, des fragments de l'embryon (environ 5 g chaque fois) sont prélevés.

Dans une première série de boîtes, l'extrait total est tout d'abord préparé par fragment de 5 grammes environ. On a choisi peau et muscle du dos, cuisse avec os, I/4 de la tête et une portion de 5 grammes de chaque organe (cerveau, foie, poumon, rein, rate, surrénales, organes sexuels).

Les parties de l'embryon, après avoir été soigneusement lavées avec du liquide de Ringer, pour éliminer le sang, sont portées dans un broyeur à hélices et additionnées de liquide de Ringer à raison de I cm^3 par gramme.

Après un broyage énergique à grande vitesse, la purée embryonnaire est étendue d'une fois son volume de solution de Ringer et après avoir mélangé l'ensemble à vitesse plus réduite, la pulpe est prélevée à l'aide de pipettes de IO cm^3 à grosse ouverture et mise à centrifuger I5 minutes à 5.000 tours par minute.

Le liquide décanté constitue l'antigène II (extrait total d'embryon de bovin).

Dans la 2è série de boîtes de Pétri, seront déposés 5 grammes d'organes séparés, afin de faire des antigènes des différentes parties de l'embryon de bovin. Ce seront : le cerveau, le coeur, le muscle, le foie, les glandes mammaires, les ovaires (pour les mâles, les testicules , la peau, le poumon, la rate, les reins, le thymus.

De plus, nous avons réalisé, en outre, des extraits faits séparèment avec : le cordon ombilical, le corps jaune de l'ovaire de la mère, les cotylédons foetaux et les cotylédons maternels.

Les organes résistants sont, après lavage dans du liquide de Ringer (2 lavages dans 25 cm^3 chaque fois), broyés chacun dans un mortier stérile en présence de sable stérile. Puis, on les additionne de liquide de Ringer à raison de 2 cm^3 par gramme.

Les autres organes sont broyés, après lavage , directement dans un tube à centrifuger avec des billes de verre; puis, toujours additionnés de liquide de Ringer dans les mêmes proportions.

Après centrifugation pendant I5 minutes à 5.000 tours, on décante et l'antigène, après avoir été congelé, est prêt à être employé; soit sous la forme d'antigène aqueux, soit, après avoir été précipité extemporanèment par l'acide acétique selon la technique indiquée au chapitre III.

Les I7 antigènes faits avec l'embryon de Bovin ont été employés parallèlement avec l'extrait embryonnaire de poulet.

Les résultats ont toujours été parallèles, c'est-à-dire que :

Les sérums positifs et les sérums négatifs à l'extrait embryonnaire total de poulet ont donné avec l'extrait embryonnaire total de bovin des résultats analogues (voir tableau N°XVIII et XX).

Les différentes parties de l'embryon de bovin n'ont pas donné les mêmes résultats que celles de l'embryon de poulet.

Pour étudier les différentes parties de l'embryon de bovin, nous avons disposé l'expérience suivante :

Trente sérums de femmes enceintes, positifs à l'antigène I, ont éte choisis et examinés, tout d'abord, avec de l'extrait d'embryon total de bovin. Ces sérums, ayant tous donné, également, une réaction positive dans une expérience de Kolmer, telle que nous l'avons décrite aux chapitres précédents, ont été mis en présence, successivement, des antigènes embryonnaires séparés et voici les pourcentages que nous avons obtenus :

AU des 30 sérums + aux extraits totaux d'embryon de Bovin. N°XVIII

IES NTES.	Gestation	E.E.Poulet	E.E.Bovin	Thymus	Testicules	Poumon	Foie	Rein	Cot.Foetus	Rate	Peau	Muscle	Coeur	Cerveau	Glandes Mammaires	Ovaire	Cotylédon mère	Cordon
ans	3 mois	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ans	4 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
ans	3 mois	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
ans	5 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
ans	4 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
ans	6 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
ans	3 mois	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ans	5 mois	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-
ans	7 mois	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-
ans	8 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
ans	3 mois	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
ans	4 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-
ans	5 mois	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-
ans	7 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
ans	6 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
ans	7 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-
ans	3 mois	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-
ans	3 mois	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
ans	4 mois	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-
ans	4 mois	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-
ans	4 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
ans	5 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
ans	6 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
ans	6 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
ans	8 mois	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
ans	3 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-
ans	4 mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
ans	5 mois	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
ans	6 mois	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
ans	8,1/2mois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-

POURCENTAGE DES SERUMS POSITIFS OBTENUS SUR DES SERUMS RECONNUS POSITIFS AVEC L'ANTIGENE I (Femmes enceintes)

(Tableau XVIII)

ANTIGENE EMBRYONNAIRE TOTAL DE BOVIN (II).....	I00%
Testicules d'embryon de bovin..... ..	90%
Thymus d'embryon de bovin.....	80%
Poumon d'embryon de bovin.....	80%
Foie d'embryon de bovin.....	80%
Rein d'embryon de bovin.....	80%
Cotylédons foetaux.....	80%
Rate d'embryon de bovin.....	70%
Peau d'embryon de bovin.....	60%
Muscle d'embryon de bovin.....	50%
Coeur d'embryon de bovin.....	50%
Cerveau d'embryon de bovin.....	50%
Glandes mammaires d'embryon de bovin.....	50%
Corps jaune de l'ovaire de vache adulte en gestation	30%
Ovaires d'embryon de bovin.....	20%
Cotylédons utérins.....	20%
Cordon ombilical.....	0%

Le même travail a été réalisé sur des sérums positifs aux antigènes I et II. Ces derniers sérums furent choisis parmi des hommes ayant environ le même âge que les femmes enceintes.

EAU des 30 sérums + aux extraits totaux d'embryons de Bovin. N° XIX

DIVIDUS / RMAUX / e masculin	E.E.Poulet	E.E.Bovin	Thymus	Testicule	Poumon	Foie	Rein	Cotylédon Foetus	Rate	Peau	Muscle	Coeur	Cerveau	Glandes Mammaires	Ovaire	Cotylédons mère	Cordon
) ans	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
) ans	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
. ans	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-
2 ans	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
3 ans	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
3 ans	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
4 ans	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
4 ans	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
5 ans	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
5 ans	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
6 ans	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
7 ans	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
8 ans	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
8 ans	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
8 ans	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
9 ans	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-
9 ans	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0 ans	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
2 ans	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
3 ans	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
3 ans	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
4 ans	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
4 ans	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
5 ans	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5 ans	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
6 ans	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
6 ans	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
7 ans	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
8 ans	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
9 ans	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-

POURCENTAGE DE SERUMS POSITIFS OBTENUS SUR DES SERUMS RECONNUS POSITIFS AVEC L'ANTIGENE I (INDIVIDUS SEXE MASCULIN (NORMAUX-Tableau XIX)

ANTIGENE EMBRYONNAIRE TOTAL DE BOVIN (II).....	100%
Thymus d'embryon de bovin.....	96%
Poumon d'embryon de bovin.....	90%
Foie d'embryon de bovin.....	80%
Cotylédons foetaux.....	80%
Testicules d'embryon de bovin.....	60%
Rate d'embryon de bovin.....	60%
Rein d'embryon de bovin.....	40%
Coeur d'embryon de bovin.....	40%
Cerveau d'embryon de bovin.....	40%
Peau d'embryon de bovin.....	20%
Glandes mammaires d'embryon de bovin.....	20%
Corps jaune de vache adulte en gestation.....	20%
Muscle d'ambryon de bovin.....	0%
Ovaire d'embryon de bovin.....	0%
Cotylédons utérins.....	0%
Cordon ombilical.....	0%

La même expérience fut renouvelée sur 30 sérums d'individus normaux.

Tous les sérums furent choisis parmi des hommes pour éliminer les causes d'erreur dues aux grossesses.

Ces sérums avaient donné des résultats négatifs avec les antigènes I et II.

BLEAU des 30 sérums – aux extraits totaux d'embryons de Bovin. N° XI

INDIVIDUS NORMAUX sexe masculin	E.E.Poulet	E.E.Bovin	Thymus	Testicules	Poumon	Foie	Rein	Cotylédon foetus	Rate	Peau	Muscle	Coeur	Cerveau	Glandes Mammaires	Ovaire	Cotylédons mère	Cordon
19 ans	–	–	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
20 ans	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
21 ans	–	–	–	–	+	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
22 ans	–	–	+	–	+	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
23 ans	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
24 ans	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
25 ans	–	–	+	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
26 ans	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
27 ans	–	–	–	–	+	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
28 ans	–	–	–	+	+	+	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–
29 ans	–	–	–	–	+	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–
30 ans	–	–	–	+	+	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
30 ans	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–
31 ans	–	–	–	–	–	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
31 ans	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
32 ans	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
32 ans	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
33 ans	–	–	–	+	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
34 ans	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
35 ans	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
36 ans	–	–	–	–	+	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
37 ans	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
37 ans	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
38 ans	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
38 ans	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
39 ans	–	–	–	–	–	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
39 ans	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
40 ans	–	–	–	+	+	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–
41 ans	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	–	–
43 ans	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Voici le pourcentage obtenu sur ces sérums étudiés avec les antigènes séparés :

POURCENTAGE DE SERUMS POSITIFS OBTENUS AVEC DES SERUMS RECONNUS NEGATIFS AVEC LES ANTIGENES (I et II) (Tableau XX)

ANTIGENE EMBRYONNAIRE TOTAL DE BOVIN	0%
Thymus d'embryon de bovin	0%
Rein d'embryon de bovin	0%
Peau d'embryon de bovin	0%
Muscle d'embryon de bovin	0%
Coeur d'embryon de bovin	0%
Cerveau d'embryon de bovin	0%
Glandes mammaires d'embryon de bovin	0%
Cotylédons utérins	0%
Ovaires d'embryon de bovin	0%
Cordon ombilical	0%
Corps jaune de vache adulte en gestation	0%
Rate d'embryon de bovin	10%
Testicules d'embryon de bovin	11%
Foie d'embryon de bovin	20%
Poumon d'embryon de bovin	27%
Cotylédons foetaux	80%

Nous allons illustrer ces résultats par des tableaux qui indiqueront les âges des sujets sur lesquels on a prélevé les sérums en fonction de la valeur des antigènes. (Tableaux XVIII, XIX, XX).

En examinant ces 3 tableaux de résultats, nous constatons que tous les sérums donnant une déviation en présence des extraits totaux embryonnaires I et II ont des pourcentages très variables, suivant leur origine, vis-à-vis, des antigènes faits à partir des différentes parties de l'embryon.

Par contre, les sérums ne déviant pas avec l'extrait total, à part quelques exceptions, ne dévient pas non plus, en présence des antigènes séparés.

I°) Voyons, d'abord, le comportement des sérums de femmes enceintes positifs par rapport aux sérums d'individus normaux positifs. Nous constatons que :

d'une façon générale, le testicule est un meilleur antigène pour résorber les sensibilatrices sériques des femmes enceintes que pour les sujets normaux jeunes.

Le poumon et le foie semblent avoir la même valeur antigénique aussi bien pour les femmes gestantes que pour les sujets sains ordinaires.

Le rein est nettement supérieur pour les sérums des femmes enceintes.

Les cotylédons foetaux ne sont pas à retenir : tous les sérums de n'importe quelle origine semblent réagir avec un antigène ainsi constitué; celui-ci ne peut donc servir à sélectionner des sérums.

La rate, la peau, le muscle, le coeur, le cerveau, bien que nous ayant fourni des antigènes médiocres, sont plus sensibles vis-à-vis des sérums de femmes enceintes que vis-à-vis

es sérums positifs d'individus normaux.

Les glandes mammaires, l'ovaire des embryons, le corps jaune statif de l'ovaire adulte ne pourraient être utilisés ac vis-à-vis des femmes enceintes.

Le cordon ombilical et les cotylédons utérins n'ont ucune valeur antigénique.

2°) Etude des sérums normaux positifs avec les extraits parés, alors qu'iB étaient négatifs aux extraits totaux.

Les sérums, pour lesquels on ne peut déceler d'anticorps moyen des extraits totaux ne réagissent pour ainsi dire s vis-à-vis des antigènes séparés, sauf vis-à-vis de subs-nces comme, les broyats de cotylédons foetaux, qui réagissent ns tous les cas et n'ont donc pas d'intérêt.

Quelques cas isolés donnèrent des réactions de fixation complèment avec l'extrait de thymus (jeunes normaux, en néral) d'autres, assez rares, réagirent en présence des traits de testicules (individus d'âge moyen pour la plu-rt).

Le poumon et le foie, après les deux organes précédents, raient encore ceux qui seraient susceptibles de fournir les ins mauvais antigènes pour cette catégorie.

Les glandes mammaires et l'ovaire embryonnaire, le corps une adulte, ne donnèrent jamais aucun résultat digne d'être enu.

On doit, probablement, attribuer à leur forte richesse en anticorps la sensibilité plus grande des femmes enceintes vis-à-vis d'antigènes de qualité plus ou moins médiocres.

Par ordre de valeur antigénique décroissante, nous citerons donc en ce qui concerne les embryons de bovins :

Le thymus, le testicule, le poumon, le foie, le rein, et en tout dernier lieu, la rate et la peau.

Enfin, les cotylédons maternels et le coeur de l'embryon donnèrent des réactions légères ou même nulles et nous ne croyons pas devoir en tenir compte dans notre discussion. Le cordon ombilical s'avéra toujours nul comme antigène, ce qui correspond bien à sa constitution anhiste, formée de gélée de WHARTON.

Ce qui ressortait, en premier lieu, de ces divers essais, c'est la régularité de la valeur antigénique du thymus et des testicules; tous deux sont, d'ailleurs, des organes contenant de très nombreuses cellules en mitoses.

Le poumon, le foie, le rein, la peau enfin sont riches en tissus conjonctifs dans lesquels les fibroblastes se multiplient facilement et continuellement sans compter l'apparition des histiocytes avec leurs potentialités diverses.

Ces mêmes essais ont été faits avec des embryons de bovin de plus de 4 mois et avec des tissus adultes. Jamais, nous n'avons eu de résultats positifs, à l'exception cepen-

dant, du thymus et des testicules employés comme antigènes, même avec nos sérums de femmes enceintes qui nous ont servi et serviront, à l'avenir, de sérums témoins positifs.

EMBRYON DE SOURIS ET DE RATS :

Ayant obtenu d'excellents résultats avec un antigène choisi sur des animaux appartenant au groupe "anticorps Forssman", nous avons étudié à nouveau la possibilité d'obtention d'antigènes à partir d'espèces rangées dans le groupe "antigène Forssman", c'est-à-dire la souris et à partir du groupe anticorps Forssman, le rat.

Des souris gravides furent choisies à environ une semaine avant de mettre bas.

Après avoir anesthésié les animaux, les foetus étaient prélevés, puis broyés dans un tube à centrifuger avec des billes de verre, suivant la technique indiquée pour les autres antigènes.

La proportion de dilution fut de 8 embryons pour 20 cm^3 de liquide de Ringer. Le liquide centrifugé et décanté fut essayé comme antigène aqueux comparativement avec l'antigène II; ceci pour un extrait total.

En outre, une autre partie du liquide centrifugé et décante fut précipitée par l'acide acétique et servait comparativement dans certains essais avec l'extrait aqueux total.

Pour les extraits séparés, nous avons choisi les organes appréciables par leur volume. Ce furent : le cerveau, le coeur, le foie, le poumon, le rein et le muscle.

Chez l'embryon de souris, les organes génitaux et le thymus furent impossibles à prélever. Un essai fut fait avec le liquide amniotique.

Les sérums examinés le furent , comme les précédents, parallèlement avec les extraits embryonnaires I et II.

Nous avons choisi une trentaine de femmes enceintes dont nous avons examiné le sérum. Voici les résultats que nous avons obtenus :

	Souris	Rat	Poulet	Bovin
Embryon total	90%	90%	I00%	I00%
Poumon d'embryon	80%	80%	I00%	80%
Foie d'embryon	80%	80%	75%	80%
Rein d'embryon	70%	80%	50%	80%
Muscle d'embryon	60%	55%	I00%	50%
Coeur d'embryon	0%	0%	0%	50%
Liquide amniotique	0%	0%	0%	0%

Dans l'ensemble, les antigènes nous apparaissent, chez la souris et le rat, comme inférieurs à ceux obtenus à partir du poulet et du boeuf.

EMBRYONS DE COBAYES

Toujours avec la même technique, nous avons essayé comme source d'antigènes les embryons de cobayes; nous n'avons pas obtenu de bons résultats avec les extraits de cet animal, qui appartient au groupe "antigène Forssman". Ceci est une preuve supplémentaire de la différence de l'antigène Forssman et de l'antigène de multiplications cellulaires.

Nous avons essayé des embryons au début de la gestation, ainsi que des embryons de femelles presque à terme. Les extraits totaux étaient broyés au broyeur à hélice à raison de Ig. pour 2 cm^3 de liquide de Ringer, puis dilués, ensuite, à I pour 2 et même I pour 3.

Les extraits séparés furent broyés au mortier avec du sable stérile. Les antigènes furent essayés en présence de sérums de femmes enceintes, en prenant chaque fois comme témoin, une réaction d'hémolyse analogue avec l'antigène I.

Les résultats furent beaucoup moins nets qu'avec les antigènes que nous avons étudiés précédemment. Les extraits d'embryon de cobaye sont, en outre, très fortement anticomplémentaires. C'est une des raisons qui oblige, d'ailleurs, à les diluer fortement. Peut-être, faut-il voir dans cette dilution, plus grande, une des raisons de la moins bonne efficacité des antigènes provenant des embryons de cobayes par rapport aux autres.

Avant de terminer ce chapitre sur la valeur antigénique des embryons, nous indiquerons que :

Pour le poulet : l'embryon de I0 à I2 jours est supérieur à celui de I8 à I9 jours.

Pour la souris et le rat :
L'embryon de 4 semaines est supérieur à celui des animaux à terme. A plus forte raison, constate-t-on qu'un rat de 2 jours est déjà trop âgé pour pouvoir fournir un antigène susceptible de déceler les anticorps de croissance

Pour le cobaye : l'embryon de 3 semaines fournit un meilleur antigène que celui de 6 semaines.

Pour le boeuf : l'embryon doit être au maximum de 6 semaines à 2 mois. Un embryon de boeuf de 4 mois n'a déjà plus de pouvoir antigénique: Pour l'adulte, le thymus de veau de 8 jours est très supérieur au thymus d'un veau de 2 à à 4 mois.

L'activité de l'antigène semble donc être une fonction de la jeunesse des tissus, quels qu'ils soient. Nous retrouverons et pourrons encore démontrer cette notion, dans un prochain chapitre, à l'occasion de l'étude des antigènes fournis par certaines cultures de tissus.

CHAPITRE VII

PARALLELISME DU POUVOIR ANTIGENIQUE DES BROYATS d'EMBRYONS et des TISSUS NON EMBRYONNAIRES

Pour cette étude de certains tissus adultes, nous n'avons travaillé que sur le boeuf, la souris et le rat mâle.

Les organes de bovin provenaient de l'abattoir de Caen. Ce furent : les testicules, le thymus, le poumon, le foie, le rein, la rate, la peau, le cerveau, le coeur.

Après élimination du sang par un premier lavage à l'eau distillée, puis un deuxième lavage au liquide de Ringer, un poids constant de tissus était prélevé puis broyé au broyeur à hélices. La pulpe était, ensuite, traitée comme, nous l'avons indiqué au chapitre VI page 93

Nous utilisâmes pour les petis animaux de laboratoire la même méthode de séparation des organes que nous avons déjà eu l'occasion d'appliquer aux embryons, mais, de plus, pour les souris femelles, nous ajoutions un antigène fait avec l'utérus et, pour les souris mâles, avec les testicules.

Voici les pourcentages obtenus avec des sérums qui avaient donné 100% de résultats sérologiques positifs avec les extraits totaux embryonnaires I et II :

	Bovin	Souris ♀	Souris ♂	Rats ♂
Thymus	95%	--------	--------	------
Testicule	90%	--------	70%	80%
Utérus	------	0%	-------	--------
Poumon	0%	0%	0%	0 %
Foie	0%	0%	I0%	0%
Rein	0%	30%	0%	0%
Rate	0%	40%	0 %	0%
Peau	20%	0%	0%	0%
Coeur	0%	0 %	0%	0 %
Cerveau	I0%	0%	I0%	0%

Les essais faits avec des tissus adultes tendent à prouver que, seuls les organes tels que les testicules et le thymus, peuvent servir d'antigène. Cette constatation conduit à étudier plus spécialement le thymus de veau ou de poulain et les testicules de taureau ou de bélier.

ETUDE DU THYMUS de VEAU et de POULAIN COMME ANTIGENES

La glande était prélevée, le plus rapidement possible, après l'abattage de l'animal. Transportée au laboratoire, elle était mise dans un cristallisoir après nettoyage externe à l'alcool iodé. La glande était, alors, incisée et on prélevait la partie interne qui n'avait pas été en contact avec les souillures extérieures.

Le thymus prélevé était rapidement lavé dans un cristallisoir stérile contenant de l'eau distillée stérile, et

traité suivant la technique indiquée précédemment. Le thymus, étant donné sa grande résistance, était malaxé à grande vitesse. La pulpe était prélevée et additionnée de liquide de Ringer à raison de I gramme pour 4 cm^3 pour le thymus de veau et de I gramme pour 3 cm^3 pour le thymus de poulain. Le thymus de poulain, étant beaucoup moins riche en graisse, pouvait, en effet, supporter des concentrations plus grandes.

Après centrifugation de I5 minutes à 500 tours par minute, le liquide décanté était passé à l'électrophotomètre de Meunier, à l'écran jaune et amené à une turbidité mesurée dans la cuve verticale correspondant à la division I95 du tambour (I)

Le thymus, étant un organe très gras, nous avons essayé d'éliminer cette cause d'erreur en vue de la fixation de complément. Pour cela, le pH de l'antigène aqueux était noté. Ensuite, nous faisions une précipitation par l'acide acétique, comme celle indiquée au chapitre III. Après décantation, le précipité était ramené au volume initial, et le pH à sa valeur primitive.

Ce précipité repris constituait notre antigène. Ne se conservant pas, il devait être employé immédiatement. En effet, 24 heures après, son pouvoir antigénique faiblissait, pour disparaître presque entièrement au bout de 48 heures.

---

(1) Tous nos antigènes, à moins qu'ils n'aient été titrés par la méthode de LEPINE et SOHIER, étaient employés, lorsque nous avions ramené leur concentration, de telle sorte que nous obtenions une turbidité qui pouvait osciller entre I80 et I95 division du tambour de l'électrophotomètre.

De plus, au bout de 24 heures, on observait une précipitation en liquide de Ringer. La redissolution était difficile, d'où mauvaise conservation.

Il est probable que ce fut la cause de la diminution de la valeur antigénique après séjour des antigènes à la glacière.

Les organes, employés comme antigènes, montrèrent ainsi des précipités plus ou moins importants .L'ordre décroissant en était le suivant : le thymus qui précipitait abondamment,puis, venaient le foie, l'extrait d'embryon total, le rein, la rate, le testicule et enfin, le cerveau.

Tout, comme pour l'extrait embryonnaire de poulet, seul, le précipité obtenu par l'acide acétique,s'est montré antigène; le filtrat, qui n'avait aucune action, était rejeté. Nous avions donc, là encore, à faire à une protéine et presque à coup sûr une nucléoprotéine. En tout cas, on peut dire, d'ores et déjà, qu'il ne s'agit sûrement pas d'un antigène lipoïdique.

RECHERCHE sur l'ACIDE THYMONUCLEIQUE COMME ANTIGENE .

D'après les essais de précipitation, nous savions que la partie active doit se trouver dans les « nucléoprotéines, selon P. Thomas. Etait-elle contenue dans l'acide thymonucléique, ou, au contraire, est-il nécessaire que la nucléoprotéine soit complète pour avoir une valeur antigénique ?

Une extraction fut donc faite de la façon suivante : Technique : 80 grammes de thymus de veau furent broyés avec I60 cm^3 d'eau, puis additionnés de 8 cm^3 de soude à 33% et I6 grs d'acétate de sodium. Ensuite, une acidification était faite avec environ I2 cm^3 d'acide acétique à 50%. Le liquide était évaporé jusqu'à ce qu'il reste environ 40 cm^3. Ces 40 cm^3 étaient versés dans un volume égal d'alcool à 96°, en agitant. Puis le tout était filtré ou centrifugé. Le précipité était dissous dans 20 cm^3 d'eau. La solution obtenue était utilisée dans une réaction de Kolmer en présence de sérums qui s'étaient montrés soit positifs, soit négatifs, vis-à-vis des antigènes I et I_2.

Aucune réaction antigénique ne nous est apparue. Si une fraction antigénique se trouve contenue dans l'acide thymonucléique, il ne nous a pas été possible de la mettre en évidence.

Les actions chimiques ou l'évaporation par la chaleur ont-elles détruit le pouvoir antigénique ? La technique devrait, peut-être, être modifiée ou bien alors, il faut probablement s'en rapporter à BORDET qui, dans son traité de l'IMMUNITE affirme que les acides nucléiques ne sont pas antigènes. Seules, les nucléoproteines complètes le sont.

N'ayant pas réussi à mettre en évidence la présence de l'antigène dans l'acide thymonucléique, nous avons employé les extraits de thymus, soit en solution aqueuse, (indice de turbidité I95), soit précipités par l'acide acétique; dans ce dernier cas, l'extrait était préparé le

jour même de la réaction de sérologie. Les résultats que nous allons donner ont toujours été trouvés en même temps sur les deux antigènes thymiques et ont, toujours, été absolument semblables.

Lorsque nous avions à faire à un thymus de poulain, la même technique était employée. Le prélèvement était fait deux fois; le thymus de poulain étant beaucoup plus riche en globules sanguins , il était dilué à un gramme pour 3 cm^3 de liquide de Ringer afin que son degré de turbidité soit à l'appareil de Meunier (écran jaune) de I85/I95.

Les résultats obtenus avec les extraits de thymus furent toujours semblables, même si ceux-ci provenaient d'espèces différentes.

Nous avons constaté, (voir page 96) que pour I00 sérums positifs à l'extrait embryonnaire de poulet, nous trouvions aussi I00 sérums positifs à l'extrait embryonnaire de bovin. A l'extrait de thymus, le pourcentage restait de 98/I00%,à condition qu'il s'agisse de sérums très positifs (notation de + à +++).

Or, il existe des sérums négatifs et des sérums qui, étant à peine légèrement positifs à l'antigène I se trouvèrent nettement positifs ou même fortement positifs au thymus et vice-versa.

Il nous a donc paru nécessaire de faire une étude détaillée des sérums normaux pour pouvoir comparer les diffé-

rents pourcentages obtenus suivant les âges et les antigènes.

L'expérience fut conduite comme pour l'étude des sérums vis-à-vis des antigènes embryonnaires. 272 sérums de sujets normaux (examens prénuptiaux) furent étudiés et, classés par tranche de IO ans. Voici les résultats positifs obtenus en %

	Thymus	E.E. Poulet
0 à 20 ans.....	98%.....	85%
20 à 30 ans.....	53,5%.....	56%
30 à 40 ans.....	66%.....	75%
40 à 50 ans.....	50%.....	33%
50 à 60 ans.....	48%.....	25%
60 à 70 ans.....	42%.....	35%
70 à 80 ans.....	40%.....	23%
80 à 90 ans.....	33%.....	20%

En examinant ce tableau, on peut constater qu'en présence de sérums d'individus normaux le thymus est un excellent antigène pour déceler les anticorps de croissance.

Examinons à présent le pouvoir antigénique du thymus vis-à-vis des sérums de femmes enceintes. 282 sérums furent étudiés. Le prélèvement était fait comme nous l'avons indiqué p. 72. Les sérums, après avoir été décantés, centrifugés et inactivés étaient débarassés de leur hémolysine naturelle par le procédé que nous avons indiqué au chapitre IV(page63)

Voici les pourcentages de résultats positifs obtenus par rapport à l'âge de la gestation :

	Thymus	E.E.Poulet
2 mois	66%	98%
3 mois	65%	86%
4 mois	53%	88%
5 mois	75%	92%
6 mois	66%	91%
7 mois	50%	92%
8 mois	50%	95%
9 mois	40%	95%

Par ce tableau, nous voyons que le thymus n'est pas aussi caractéristique pour le diagnostic de la grossesse que l'antigène I. Il est probable qu'il joue davantage en fonction des âges des femmes plus qu'en fonction de leur grossesse.

Il est,cependant, impossible de donner les résultats par âge et par mois de grossesse, le nombre de femmes exactement du même âge au même temps de la gestation n'est pas assez important pour qu'on puisse en tirer une conclusion.

Le thymus de poulain donna, enfin, des résultats en tous points comparables à ceux obtenus avec les extraits de thymus de veau.

ETUDE DES EXTRAITS DE TESTICULE DE TAUREAU ET DE BELIER COMME ANTIGENES

La même technique de prelèvement est appliquée pour le testicule. Après avoir passé la glande à l'alcool iodé, l'albuginée est incisée et une dizaine de grammes de pulpe intérieure est prélevée et broyée au broyeur à hélice avec du liquide de Ringer.

Après centrifugation, l'extrait aqueux est passé à l'électrophotomètre de Meunier et ramené par addition, si nécessaire, de liquide de Ringer à une turbidité correspondant au chiffre de I95 (antigène VII).

Cet extrait fut aussi précipité par l'acide acétique et le floculat repris et redilué dans du liquide de Ringer constitua l'antigène VII_2. Ces deux produits ont été essayés en présence de sérums positifs normaux et de sérums positifs de femmes enceintes. Les antigènes employés comme témoins sont toujours l'extrait embryonnaire de poulet (antigène I et I_2) ou de bovins (I et II_2)

Pour des sérums de sujets normaux fixant le complèment, dans une proportion de I00% en présence d'extraits embryonnaires totaux (antigènes I - I_2 - II - et II_2), voici les résultats obtenus avec les extraits testiculaires (antigènes VII - VII_2 - et VII bis qui se comportent, les uns par rapport aux autres, d'une façon semblable)

	Extrait testiculaire
0 à 20 ans.....	95%
20 à 30 ans.....	56%
30 à 40 ans.....	78%
40 à 50 ans.....	80%
50 à 60 ans.....	68%
60 à 70 ans.....	74%
70 à 80 ans.....	80%
80 à 90 ans.....	40%

En comparant ces résultats constatés avec ceux de l'antigène I **et VI de 3 mois,** on constate que le testicule se comporte à peu près comme le thymus pour les sérums de sujets jeunes, puis, à partir de sérums provenant de sujets âgés de 35/40 ans, le pouvoir antigénique du testicule se maintient très longtemps. Il ne va vraiment en s'affaiblissant qu'à la dernière période de la vie, après avoir eu un fléchissement notoire vers 50 ans avec une recrudescence entre 60 et 80 ans; enfin, il s'affaiblit considérablement entre 80 et 90 ans.

Pour déceler les anticorps de croissance, l'extrait testiculaire ne peut donc être considéré, pour les sujets normaux de sexe masculin, comme un bon antigène. On ne pourrait le mettre en parallèle avec les extraits embryonnaires totaux que de 0 à 30 ans.

Examinons, à présent, le pouvoir antigénique du testicule visàà-vis des femmes enceintes. 275 sérums furent étudiés.

Voici les pourcentages obtenus par rapport à l'âge de la gestation:

Extrait testiculaire

2 mois.....63%
3 mois.....67%
4 mois.....77%
5 mois.....83%
6 mois.....82%
7/8/9 mois.....75%

L'extrait testiculaire serait donc vis à vis des femmes enceintes un oeilleur antigène que le thymus, mais cependant encore inférieur aux extraits embryonnaires totaux.

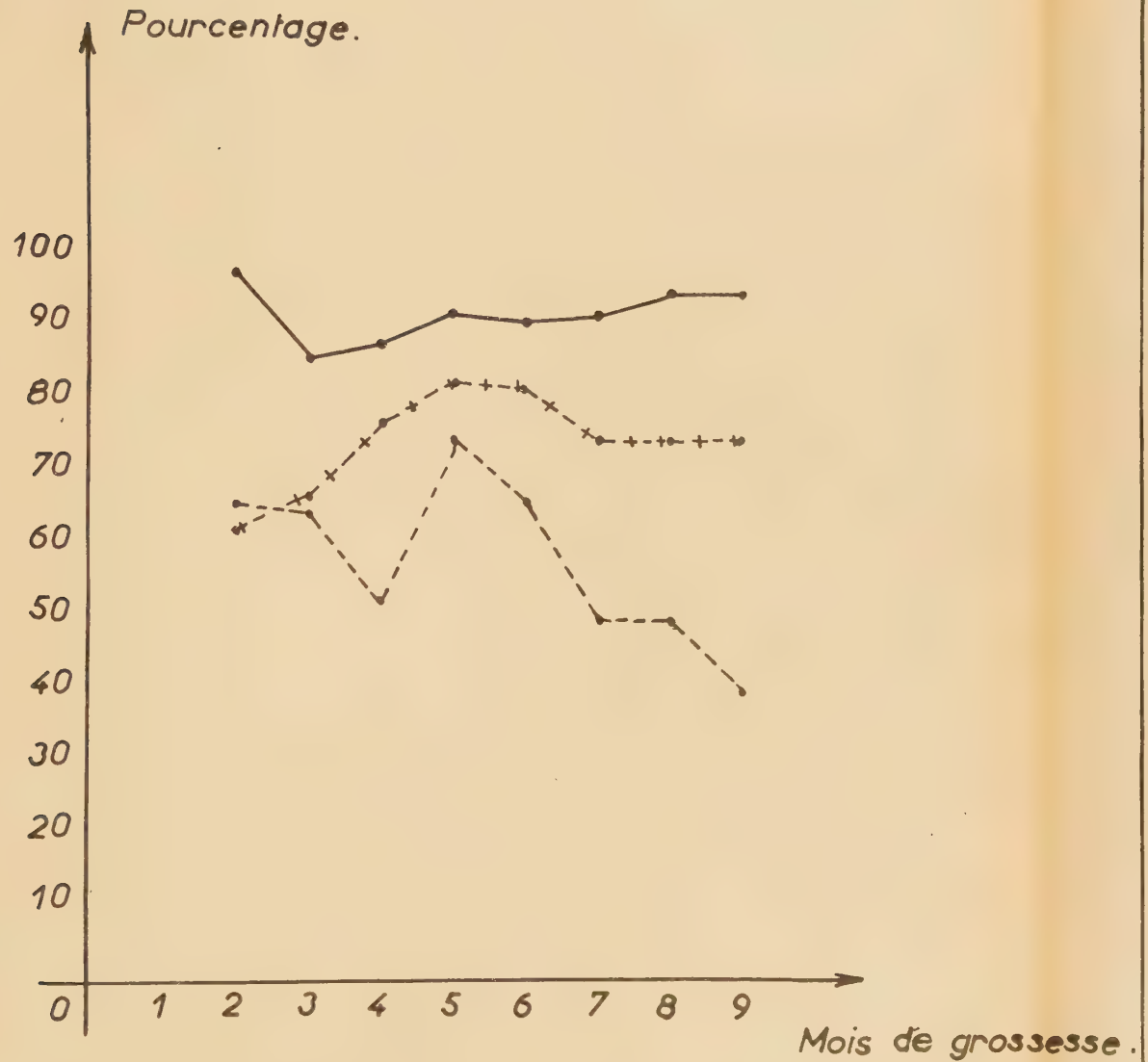
Il est possible que ces extraits testiculaires et de thymus soient inférieurs aux extraits embryonnaires totaux,non pas à cause de leur origine ou de leur espèce,mais uniquement parce que ce sont des extraits d'adolescents ou d'adultes.

Nous avons vu,en effet, précédemment à propos des antigènes extraits des foetus de bovidés,que les mêmes glandes provenant d'embryons jeunes étaient particulièrement actives:le thymus vis à vis des normaux jeunes et les testicules vis à vis des femmes enceintes.Les sérums des sujets normaux âgés réagissent encore avec l'extrait testiculaire,alors qu'ils ne donnent plus rien avec l'extrait de thymus.

Ce fait nous semble en rapport direct avec la constitution du thymus.

Cette glande,en effet,se développe rapidement dans les années qui suivent la naissance,puis plus lentement

Pouvoir antigénique vis à vis des Femmes enceintes.



Légende.

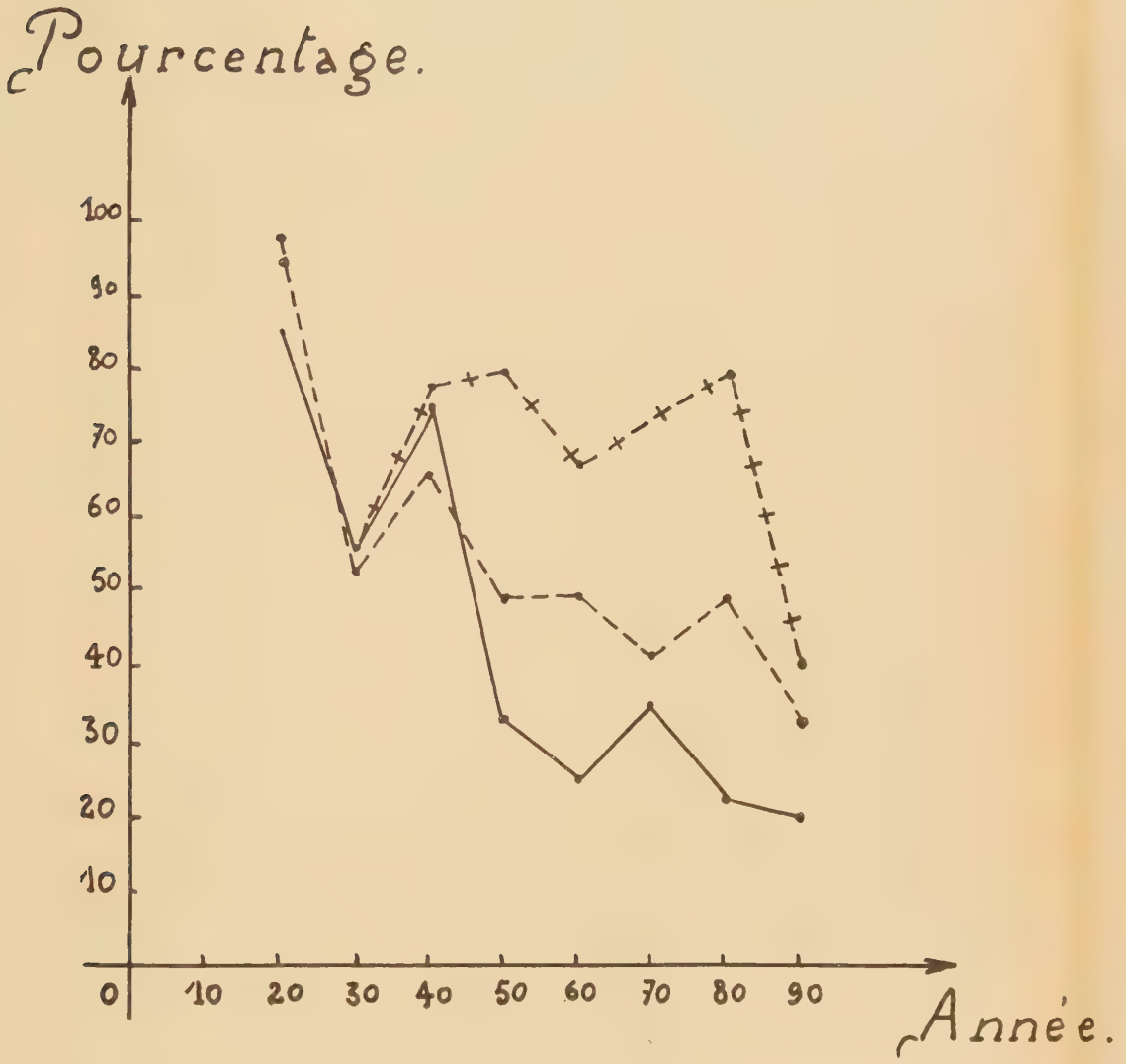
____ Extrait embryonnaire total.

_____ Extrait de thymus de veau

+-+-+ Extrait testiculaire de taureau.

M

Chute des Anticorps en fonction de l'âge de la vie.



Légende.

___ Extrait Embryonnaire total.

____ Extrait de Thymus de veau.

-+-+- Extrait Testiculaire de taureau.

jusqu'à la puberté où elle atteint son maximum; après quoi, elle régresse et, chez le vieillard, il n'en reste plus que des traces sous la forme de quelques grains thymiques épars dans la graisse du médiastin antérieur.

Nous avons traduit notre étude comparative des antigènes par deux graphiques.

L'un (N) indiquera la chute des anticorps chez les individus normaux en fonction des trois antigènes étudiés;

extrait embryonnaire total

thymus

testicule

L'autre (M) donnera la persistance des anticorps chez les femmes enceintes par rapport également aux trois antigènes précités.

X

X X

Le fait que nous venons d'observer que certains tissus, tels le thymus et le testicule, étaient d'autant plus actifs qu'ils étaient prélevés sur des embryons jeunes, nous donna,enfin,à penser que peut-être certains organes avec les extraits desquels il était impossible de déceler des anticorps de multiplication cellulaire, seraient susceptibles d'être plus actifs sous certaines conditions.

En effet, si pour un bon antigène les cellules doivent de toute nécessité être très jeunes, pourquoi ne pas essayer les cellules obtenues en cultures de tissus ? Les fibroblastes étant faciles à obtenir devraient être le meilleur test de démonstration.

De plus, le coeur dans presque toutes nos expériences s'est montré l'un des plus mauvais antigènes,même lorsqu'il est prélevé sur un embryon; il était donc intéressant de voir si ce même coeur, mis en culture, pourrait donner un antigène dont le pouvoir serait dû seulement aux cellules jeunes en division qui y apparaîtraient alors.

CHAPITRE VIII

POUVOIR ANTIGENIQUE DES TISSUS MIS EN CULTURE

Nous avons montré au chapitre V, intitulé " différents types d'antigènes embryonnaires " , que le coeur est de tous les organes étudiés celui qui nous a fourni les plus mauvais antigènes. Le coeur de l'embryon de poulet ne put jamais, en effet, nous servir à déceler des anticorps dans le sérum des femmes enceintes. Il était donc intéressant d'arriver à démontrer que ce même coeur mis en culture et ayant de ce fait, des cellules continuellement en mitose, pourrait devenir un excellent antigène. Nous aurions, ainsi, fourni la preuve que la valeur antigénique de nos différentes préparations est bien en rapport avec l'importance des multiplications cellulaires qui y existent.

On entend par cultures de tissus l'explantation en dehors de l'organisme, d'ensembles cellulaires vivants que l'on place dans un milieu nutritif capable d'assurer la survie, la croissance et la multiplication des cellules.

Les souches pures de tissus jouent le même rôle que des souches pures de microbes en bactériologie, mais elles sont plus difficiles à obtenir. Le développement de ces cultures cellulaires in vitro est fonction des substances actives qui sont contenues dans l'extrait embryonnaire.

Les travaux préliminaires de Paul BERT (1866) assurent théoriquement la possibilité de la vie indéfinie par passages en milieu renouvelé : ceux de RANVIER (1875), de Léo LOEBB (1897), puis de JOLLY (1903), sur la multiplication de cellules sanguines créant la culture des tissus d'animaux à sang froid, montraient la possibilité de cultiver des

cellules de tissus dans des récipients de verre comme pour les cultures de microbes.

HARRISON (1907) crée la culture des tissus, en observant in-vitro le développement de cellules nerveuses et de fibres musculaires de grenouille adulte.

BURROWS (1910) , CARREL & BURROWS (1910), mettent au point la technique des cultures de petits fragments de tissus d'animaux à sang chaud sur plasma. CARREL ajoute, en 1912, un peu d'extrait embryonnaire au plasma du milieu de culture, ce qui provoque une multiplication importante de cellules. Il suppose, donc, dans les extraits embryonnaires la présence de principes, appelés tréphones, qui exiteraient très activement les mitoses.

La réalisation de bonnes cultures de tissus est subordonnée à trois conditions :

- un substratum solide qui permet aux cellules de s'étaler et de se développer : par exemple coagulum de plasma, ou membranes plastiques,

- des échanges gazeux faciles, d'où nécessité de mettre en culture de très fins morceaux de tissus,

- un apport de substances nutritives et une élimination des produits toxiques assurée par l'addition de jus embryonnaire, de liquide minéral et par des lavages successifs ou des repiquages (passages) fréquents des cultures dans de nouveaux milieux.

La culture de tissus , suivant le but que l'on cherche, peut être faite par différentes méthodes. Nous avons d'abord choisi pour notre travail la méthode classique de CARREL sur cellules en voie de prolifération.

Techniques générales -

Que les cultures soient entreprises par n'importe quelle méthode, elles requièrent un certain nombre de points communs : locaux, aseptie, matériel, préparation des tissus, des milieux (nutrition et support), mise en culture, repiquage.

- Locaux : les manipulations doivent se faire dans une salle aseptique, ou à défaut sous une hotte stérilisée quelques minutes par émission de rayons ultra-violets.

- Aseptie : la propreté chimique et l'aseptie dominent les manipulations.

- Instruments : en plus des instruments courants, on stérilise un broyeur à hélice.

- Verrerie : suivant la méthode que nous avons employée, nous avons préparé des lames à concavité avec lamelle de mica, des plaques de verre destinées à recevoir des lamelles et des anneaux de verre, ou enfin des tubes pour la méthode des tubes roulants.

- Préparation des milieux salins : le liquide de RINGER est préparé suivant la formule habituelle, le liquide de TYRODE est préparé suivant la formule indiquée par P.LEPINE, qui ajoute à la formule classique 0,25 g. de phosphate acide de sodium, pour compenser l'alcalinisation du milieu résultant de la stérilisation par filtration. Nous avons préparé en eau bi-distillée, des solutions mères pour chaque élément qui entre dans la composition du liquide de Tyrode. Ces solutions mères furent conservées à la glacière. Au moment de l'emploi, nous ajoutions 2 cm3 de rouge de phénol à 0,2 pour 100. Le liquide de Tyrode était alors filtré soit sur bougie Chamberland L 3, ou mieux, sur un appareil de Seitz sous pression et non sous vide pour éviter les pertes de gaz

carbonique et empêcher l'alcalinisation du milieu. Le liquide de Tyrode avant filtration, présente une teinte rouge violacée et prend, après filtration, une teinte saumonée. Il est ensuite distribué en tubes ou autres récipients hermétiquement bouchés avec des bouchons de caoutchouc stériles. On peut le conserver deux mois à la glacière. La solution de Hanks est préparée suivant la version simplifiée de la technique originale de HANKS & WALLACE (1949). Cette technique de préparation est, d'ailleurs, indiquée dans le "Manuel de technique de laboratoire " de LEPINE & SOHIER.

- Préparation du plasma de poulet : Dans nos toutes premières expériences, nous avons employé la technique classique de CARREL & BURROWS (1911). Pour recueillir le sang de poulet nous avons paraffiné des tubes en faisant un mélange à parties égales de paraffine et de vaseline très chaude. Ce mélange est étalé sur les parois internes avant d'être rejeté. Puis les tubes sont stérilisés.

Cette technique pour obtenir du plasma est assez longue et nous l'avons remplacée par celle employée à l'Institut PASTEUR et décrite par P.LEPINE & R.SOHIER. Dans ce cas, le prélèvement de sang est fait soit avec une seringue contenant de l'héparine (LEWIS 1928), soit, directement, sans seringue, à l'aide d'une longue aiguille. On reçoit alors le sang dans les tubes paraffinés refroidis (PAVLECH 1953); on le centrifuge à 3000 tours pendant 10 minutes. Le plasma de poule hépariné ou non se conserve bien à la glacière à + 5°C. (pendant 4 à 6 mois).

- Préparation de l'extrait embryonnaire : cette préparation est la même que celle indiquée au chapitre II "Préparation de l'antigène". La congélation doit être faite à - 24° C. pour conserver l'extrait embryonnaire en vue des cultures de tissus. Si l'on n'a pas la possibilité de produire un tel degré de froid, l'extrait doit être renouvelé à chaque mise en culture.

- Préparation du milieu nutritif liquide : La composition du milieu a été différente suivant le procédé de culture employé et suivant les tissus mis en culture.

Procédé sur lame - Le milieu nutritif de WIRTH & BARSKI (1947) est employé pour la culture sur membranes plastiques.

5 cm3 de plasma de poule sont mélangés à 5 cm3 d'extrait embryonnaire dans un tube à centrifuger avec des perles de verre, puis fortement agités pour réduire le caillot plasmatique en petits fragments. Une forte centrifugation (10 minutes à 6000 tours), permet de décanter le milieu liquide, la fibrine restant au fond du tube. A ce milieu (7 à 8 cm3), sont ajoutés 5 cm3 d'extrait embryonnaire frais et 10 cm3 de liquide de TYRODE.

Procédé des tubes roulants - Cette technique, dont l'idée revient à CARREL a été mise au point en 1933 par GEY (1933 - 1936 - 1939). Sa simplicité en fait une technique de choix dès que l'on désire avoir un nombre important de cultures en mêmes temps (150 à 200). Elle s'effectue dans des tubes ordinaires en pyrex de 16/150 mm dont la paroi interne est recouverte dans ses 2/3 inférieurs d'une fine couche de plasma mélangé avant coagulation avec du milieu de ENDERS dont la formule variait suivant le nombre de passages que nous désirions obtenir et suivant l'espèce de tissus cultivé. C'est ainsi que pour le coeur de l'embryon

de poulet nous employons une formule de ENDERS légèrement modifiée que nous appellerons le milieu de ENDERS N°1.

Milieu de ENDERS N°1 -

Sérum de cheval décomplementé	20%
Liquide amniotique de bovin	45%
Extrait total d'embryon de bovin de 2 mois	10%
Solution de HANKS	25%

Filtrer sur bougie L3 ou SEITZ.

Ce milieu, au moment de l'emploi , est dilué à 50% avec de l'extrait embryonnaire de poulet.

Pour les cultures de tissu testiculaire, nous avons employé le milieu de ENDERS N°2.

Milieu de ENDERS N°2 -

Liquide amniotique de bovin	90%
Sérum de cheval décomplémenté (1 heure à 56°	5%
Extrait embryonnaire de bovin de 2 mois	5%

Filtrer sur bougie L3 ou SEITZ.

Au moment de l'emploi, ces milieux sont additionnés d'une partie égale d'extrait embryonnaire de poulet.

Les extraits totaux de bovins sont faits au broyeur à hélice, en éliminant la tête, les pattes et le foie qui contiendrait d'après FISCHER une substance à pouvoir inhibiteur.

On ajoute à ces milieux nutritifs, 200 unités de pénicilline et 50 Y de streptomicine par cm3 de milieu pour en faciliter la conservation qui se fait à + 4° C.

Les fragments de tissus constituant le point de départ de la culture sont inclus dans le coagulum obtenu par le mélange plasma plus liquide de ENDERS, à raison d'une douzaine par tube.

Un milieu nutritif liquide de même composition que le substrat, à l'exception du plasma, est introduit en petite quantité (X gouttes par tube), puis les tubes sont bouchés avec un bouchon de caoutchouc gris et mis en place presque horizontalement dans un appareil rotatif. Tubes et cultures tournent ainsi lentement sur leur axe (12 tours à l'heure) et les tissus sont tantôt baignés par le milieu liquide, tantôt, au contraire, restent exposés à l'air. Les repiquages sont ainsi supprimés. On se contente d'aspirer avec une pipette à boule le liquide deux fois par semaine et de le remplacer par le milieu nutritif adapté à l'espèce de tissu.

Expérience sur les cultures de tissus en vue de l'obtention d'un antigène -

Nos essais préliminaires furent faits par la méthode sur lames. Le tissu que nous avons cultivé était du coeur d'embryon de poulet de 11 à 14 jours. Le coeur était fragmenté et les explants étaient mis sur une lame concave contenant du liquide de RINGER ; après un temps qui varia entre ½ heure et 2 heures, durant lequel le liquide de RINGER était renouvelé, les explants furent mis en culture suivant la technique indiquée.

Dès 18 heures après l'ensemencement , nous avons observé au microscope la pousse de nos cultures; seules, celles qui montraient une bonne pousse, très régulière, furent repiquées et ceci jusqu'au quatrième passage. A ce moment, les cultures étaient séparées du substrat et lavées abondamment pendant 2 heures, en renouvelant le liquide de RINGER trois ou quatre fois pour éliminer toute trace d'extrait embryonnaire qui aurait faussé nos résultats.

Les cultures étaient, ensuite, transportées sous la hotte stérile dans des mortiers de verre stérilisés, puis broyées très soigneusement pendant un minimum d'un quart d'heure. Le liquide de RINGER était ajouté peu à peu à raison de 10 cm3 pour 30 cultures de 3 semaines. Ce broyat constituait notre antigène.

Nous l'avons employé, soit tel quel en suspension (il présentait alors un aspect laiteux), soit après une centrifugation de dix minutes à 5.000 tours. Les résultats, après centrifugation, se révélèrent inférieurs. C'est à dire que pour un même sérum, on pouvait observer une fixation totale du complément avec l'antigène non centrifugé et une réaction seulement partielle avec l'antigène centrifugé. L'antigène complet n'ayant aucun pouvoir anti-complémentaire, nous l'avons employé par la suite immédiatement après broyage (antigène X).

Les expériences de fixation du complément furent conduites exactement de la même façon que lorsque nous avions à faire à un antigène d'organe. Les réactions employées furent celles de KOLMER et de CALMETTE - MASSOL.

Pour étudier complétement cette réaction antigénique, nous avions besoin d'un grand nombre de culture; c'est pourquoi nous avons adopté, en définitive, la technique des tubes roulants qui nous a permis d'avoir facilement 180 cultures chaque fois que nous avions besoin d'antigène.

Nous avons étudié 10 sérums de femmes enceintes, 4 sérums d'enfants, 6 sérums d'adultes et 3 sérums de vieillards.

Tous les sérums de femmes enceintes fixèrent le complément en présence de l'antigène N°1, tandis qu'avec l'antigène de coeur d'embryon nous n'avons trouvé qu'un seul sérum de femme enceinte qui fixa le complément. Le même coeur mis en culture et préparé, après 3 semaines de repiquages,

TABLEAU XXI

Tableau comparatif de serums positifs et négatifs avec l'antigène I, l'antigène I_{coeur}, l'antigène X et l'antigène XI. (1)

Serums	Age	Antigène I	Antigène I_{coeur}	Antigène X du jour	Antigène XI du jour.
- Enfants.					
	8 ans ♂	+	-	+	-
	12 ans ♀	+	-	+	+
	7 ans ♀	+	-	+	-
	7 ans ♂	+	-	+	+
- Adultes.					
	19 ans ♂	+	+	+	+
	26 ans ♂	+	-	+	+
	33 ans ♀	+	-	+	+
	41 ans ♂	+	-	+	+
	53 ans ♂	-	-	-	+
	60 ans ♂	-	-	-	-
- Vieillards.					
	71 ans ♂	-	-	-	-
	76 ans ♂	-	-	-	-
	80 ans ♂	-	-	-	-
- Femmes enceintes.					
4 mois.....	38 ans	+	+	+	+
2 mois $\frac{1}{2}$...	22 ans	+	-	+	-
4 mois.....	24 ans	+	-	+	+
3 mois.....	24 ans	+	-	+	+
7 mois.....	25 ans	+	-	+	+
4 mois.....	23 ans	+	-	+	+
4 mois.....	24 ans	+	-	+	-
6 mois.....	27 ans	+	+	+	+
3 mois $\frac{1}{2}$...	24 ans	+	-	+	+
3 mois.....	25 ans	+	-	+	-
- Cancéreux.					
Cancer de la base de la langue.....		+	-	+	+
Cancer du col utérin....		+	-	+	+
Cancer du col utérin....	28 ans	+	-	+	+

(1) Antigène n° I : Extrait total d'embryon de poulet.
Antigène n° I_{coeur} : Extrait de coeur d'embryons de poulet.
Antigène n° X : Extrait de broyats de culture de coeur d'embryon de poulet.
Antigène n° XI: Extrait de broyat de culture de testicule d'embryon de bovin.

TABLEAU N° XXII

Pouvoir de l'antigène X en fonction du vieillissement.

Serums	Age	Antigène n° X du jour.	Antigène n° X vieilli 24 h. et 48 h. à + 5°		Antigène n° X vieilli 24 h. et 48 h. à - 3°	
			24 h.	48 h.	24 h.	48 h.
- Enfants.	8 ans	+	+	-	+	-
	12 ans	+	+	-	+	-
	7 ans	+	+	-	+	-
	7 ans	+	±	-	+	-
- Adultes.	19 ans	+	±	-	+	-
	26 ans	+	+	-	+	-
	33 ans	+	-	-	±	-
	41 ans	+	-	-	±	-
- Femmes enceintes						
4 mois	38 ans	+	±	-	-	-
2 mois $\frac{1}{2}$	22 ans	+	+	±	+	±
4 mois	24 ans	+	+	-	+	-
3 mois	24 ans	+	+	-	+	-
7 mois	25 ans	+	-	-	-	-
4 mois	23 ans	+	-	-	-	-
4 mois	24 ans	+	+	-	+	-
6 mois	27 ans	+	-	-	-	-
3 mois $\frac{1}{2}$	42 ans	+	+	-	+	±
3 mois	26 ans	+	-	-	-	-
- Cancéreux						
Cancer base de la langue.....		+	-	-	-	-
Cancer du col utérin.		+	+	-	+	±
Cancer du col utérin	28 ans	+	+	±	+	±

comme antigène put déceler les anticorps dans les sérums des dix femmes enceintes.

Il en fut de même pour les sérums d'adultes et les sérums d'enfants. Les sérums des vieillards restèrent négatifs (voir tableau XXI).

Notre hypothèse se trouvait donc confirmée puisqu'un tissu de coeur adulte ou même provenant d'un embryon nous fournissait une substance inactive, privée du pouvoir antigène, tandis que le même coeur d'embryon mis en culture nous donnait, après quatre passages au minimum, un excellent antigène.

Ces faits mettent nettement en lumière la nécessité absolue d'avoir des cellules en pleine activité pour déceler les anticorps que nous étudions dans ce mémoire.

Durée du pouvoir antigénique des cultures -

Une partie de l'antigène constitué par des cultures de tissu broyé, fut mis à la glacière à + 5° C et une autre partie fut mise à - 3° C.

Des essais de conservation furent faits pendant 24 heures. Les résultats obtenus avec l'antigène vieilli furent souvent moins nets qu'avec un antigène préparé extemporanément, et, au bout de 48 heures, l'antigène devenait incapable de mettre en évidence les anticorps (voir tableau XXII). Le gel complet n'améliora pas la conservation de l'antigène à base de culture de tissu.

Variation du tissu mis en culture -

Des cultures furent également faites à partir de tissus testiculaires prélevés sur des embryons de bovin de 2 mois environ. Les prélèvements furent faits suivant les conditions d'asceptie indiquées à la page 92 et les cultures furent faites

en présence du milieu de ENDERS N° 2 dont la formule a été donnée page I23.

Les cultures de testicules furent prélevées comme nous l'indiquons à la page I25.

L'extrait frais de la culture de testicule (antigène XI) était employé le jour même comme antigène, parallèlement avec un extrait de culture de coeur d'embryon de poulet. Les résultats furent, en tous points, comparables à ceux obtenus avec les cultures de coeur (voir tableau XXI), mais ces dernières constatations sont moins démonstratives puisque le testicule, organe que l'on sait riche en nombreuses mitoses, est, par lui même, capable de fournir un bon antigène, comme nous l'avons établi précédemment (voir page II5).

- CHAPITRE IX -

CANCERISATION ARTIFICIELLE DES RATS ET DES SOURIS

Dans ce chapitre, nous allons essayer de démontrer que le sérum d'animaux cancérisés possède des anticorps correspondant à la multiplication cellulaire qui les caractérise, et, par conséquent, décelables par nos antigènes.

Les cellules néoplastiques possèdent des antigènes qui leur sont propres. WOLLMAN et URBAIN (1927) ont montré que le sérum de lapin traité par des injections de sarcome broyé (tumeur de Rous) confère à ce tissu sarcomateux beaucoup plus qu'au tissu musculaire normal de poule, l'aptitude à s'emparer de l'alexine.

D'autre part, l'injection au lapin de tumeurs (sarcome, épithéliome) entretenuepar greffe chez la souris permet d'obtenir des sérums donnant lieu à la fixation de l'alexine sur le tissu tumoral, tandis que le sérum de lapin immunisé contre le tissu normal de souris ne possède pas cette propriété.

Nous avons montré, enfin , (1935 d) avec NATTAN-LARRIER, que des lapins cancérisés par injection de broyage de tumeur de BROWN-PEARCE acquéraient le pouvoir de fixer le complément en présence d'extrait embryonnaire, ainsi qu'en présence d'un antigène constitué par un extrait de la tumeur elle-même.

En 1945, KIDD a découvert que le sérum de lapins porteurs de certaines tumeurs dont la tumeur de BROWN-PEARCE, renfermait des anticorps qui fixent le complément en présence d'extraits aqueux soit de certains tissus normaux, soit de tissus néoplasiques, soit d'embryons de poulet.

A la suite de nos travaux récents sur la multiplication cellulaire au cours de la cicatrisation (chapitre IV) nous nous sommes demandés comment le sérum de souris et de rats réagirait vis à vis de nos antigènes si on provoquait chez ces animaux l'apparition de tumeurs par badigeonnage ?
En 1915, JAMAJIWA et ITCHIKAWA constatèrent chez des lapins dont l'oreille avait été badigeonnée, à plusieurs reprises, par du goudron, l'apparition dûun cancer. TSUSUI trouva que la souris convenait spécialement pour cette opération de cancérisation. On s'est demandé quelle substance dans le goudron était cancérigène. KENNAWAY et ses collaborateurs ont démontré que la substance active pour le goudron était le benzopyrène formé par l'accolement d'un noyau benzénique au pyrène : le dibenzanthracène a deux noyaux benzéniques accolés à l'anthracène et, lui aussi, est très cancérigène. L'activité de ces produits n'est pas fonction de l'irritation qu'ils provoquent, mais en rapport avec leur structure moléculaire. Les phénols sont irritants mais non cancérigènes et il existe, en effet, des isomères de ces corps qui sont complètement inactifs.

Ces substances cancérigènes ressemblent chimiquement à des matières existant dans l'organisme normal et qui sont notamment le cholestérol , les acides biliaires, la vitamine D dérivée de l'ergostérol et les hormones sexuelles telle que la folliculine. Elles dérivent toutes du phénanthrène.

Aux dépens d'une matière de ce groupe, l'acide desoxycholique, qui existe dans la bile des mammifères, WIELAND et DANE, en 1933, ont pu obtenir le méthylcholantrène, doué d'un pouvoir cancérigène très prononcé.

De ces corps nous avons retenu, le benzopyrène et le méthylcholantrène, particulièrement recommandés pour

provoquer la cancérisation artificielle. Nous avons préparé des solutions benzéniques à 1% de ces corps, puis, nous avons disposé ensuite les expériences suivantes :

50 souris mâles et 50 rats mâles furent choisis de poids respectifs à peu près semblables.

Pour les souris, le poids oscillait entre 20 et 30 grammes, tandis que pour les rats, nous les avions choisis entre 180 et 240 grammes.

Après avoir rasé la nuque de tous ces animaux, nous avons procédé au badigeonnage régulier, tous les deux jours, avec une solution de méthylcholantrène pour la moitié des animaux, tandis que l'autre moitié était badigeonnée avec une solution de benzopyrène.

Au bout de 2 badigeonnages, le poil semblait pousser plus vite et être plus touffu aux endroits traités; puis après 6 badigeonnages, soit 12 à 15 jours après le début du traitement, le poil tombait et la zone restait glabre. L'épithélium devenait épaissi et le derme était infiltré d'éléments leucocytaires surtout de lymphocytes.

Dans un premier stade, soit un mois environ après le début des badigeonnages, on constatait des excroissances épithéliales qui se développent en certains points, parfois même assez éloignés de la zone traitée. Ces sortes de verrues sont des papillomes encore bénins. Si on suspend le traitement pendant une semaine, les papillomes régressent en général.

Le processus est le même avec le méthylcholantrène et le benzopyrène, si ce n'est que ce dernier corps nous a donné une évolution plus lente : il faut compter six semaines à deux mois pour obtenir l'apparition de papillomes.

Dans un deuxième stade, au point de badigeonnage, le papillome évolue ; il continue à grandir, devient plus adhérent et se transforme en tumeur cancéreuse. Le processus de cancérisation ne s'étend pas d'une façon diffuse sur toute la surface du dos; il se localise en foyers bien circonscrits où la substance cancérigène transforme un groupe de cellules normales en cellules malignes.

Dans un troisième stade, les croûtes superficielles se détachent, la plaie devient sanguinolente, suppure et se creuse parfois jusqu'à montrer les vertèbres.

Le sang des animaux fut prélevé au premier, au deuxième et au troisième stade.

Les souris étaient ponctionnées; mais, si la ponction s'avérait impossible, elles étaient sacrifiées tandis que pour les rats, le sang était toujours prélevé par ponction cardiaque. A chaque examen, un prélèvement de sang analogue était fait sur un animal neuf d'un lot témoin.

Les sérums des animaux sains et des animaux malades furent mis en présence des antigènes N°1 et 1_2. La fixation du complément fut constatée dans les proportions suivantes :

Au premier stade, soit 4 semaines après le début des badigeonnages, nous avons constaté un pourcentage de positifs de 20% pour les souris et de 15 % pour les rats; les témoins étaient tous négatifs.

Au deuxième stade, soit 6 semaine après le début du traitement, le pourcentage était de 60% de positifs chez les souris et 50% pour les rats, les témoins restant toujours négatifs.

Enfin, au troisième stade, qui s'est étendu entre deux mois et quatre mois, le pourcentage des réactions positives fut de 100% pour les souris et les rats, les témoins ne fixèrent jamais le complément.

Nos résultats furent identiques sur les deux groupes, qu'ils fussent traités par le méthylcholantrène ou le benzopyrène.

Nous pourrons donc dire que, comme dans l'expérience de cicatrisation des plaies, des réactions sérologiques positives apparurent, dès qu'il y eut des proliférations cellulaires abondantes, avant même que les tumeurs ne soient devenues cancéreuses. Cette expérience confirme bien la théorie que nous avons proposée de l'interprétation des fixations du complément utilisant les antigènes extraits de tissus en pleine période de multiplication cellulaire.

CHAPITRE X

ETUDE DES SERUMS DE SUJETS CANCEREUX

On sait depuis de nombreuses années que le sang des sujets cancéreux subit de profondes modifications portant sur :

1 - les éléments figurés
2 - la composition chimique
3 - la composition physico-chimique

Malgré ces modifications, on n'a pu, jusqu'à ce jour, déceler d'une façon sûre un état cancéreux par un simple examen du sang.

Les variations globulaires ne sont pas spécifiques. Les modifications des albumines sont très variables, inconstantes et souvent tardives. Le métabolisme des lipides est perturbé (ROUSSY(1929, ASCOLI(1934) ; le pH sanguin semble être en alcalose (COLLIER(1934), (SLOSS(1929) , (REDING(1932), (BENETATO(1933, RAKOW(1934), mais il est impossible de se servir de ces données pour établir un diagnostic.

Quant aux diagnostics sérologiques et biologiques du cancer, il en existe un nombre considérable. Nous ne passerons en revue ici que les méthodes de fixation du complément.

La réaction du BORDET-WASSERMANN dans la syphilis restant le grand exemple d'un diagnostic sérologique, on s'est efforcé d'appliquer cette réaction au diagnostic du cancer.

Du point de vue théorique, la tumeur peut-elle jouer

le rôle d'un antigène étranger? Il faudrait admettre la formation des anticorps contre les cellules propres de l'organisme, tout au moins après modification. HIRSCHFELD admet, dans son rapp ort au II Congrès de lutte contre le Cancer, la possibilité de caractérisation sérologique d'un organe, mais, dit-il, " cette spécificité sérologique n'est pas liée à l'existence de véritables anticorps contre ces organes, du moins à l'état physiologique, car, à l'état pathologique, le fait peut se produire".

Le cancer est une maladie à construction rapide, mais qui détruit et désintègre, en même temps, beaucoup. C'est, probablement, cette désintégration que mettent en évidence les réactions de fixations de complément telles qu'elles sont conçues jusqu'à présent.

C'est ainsi que MATSAMURA et HIRSCHFELD trouvent une réaction de BORDET-WASSERMANN positive dans les cancers avancés. L.BERTRAND constate que le BORDET-WASSERMANN positif existe presque toujours dans le cancer, mais la réaction est plus forte avec comme antigène un extrait cancéreux. HIRSCHFELD constate avec la réaction de fixation du complément à l'aide d'extraits cancéreux 46,3o/° de réactions positives avec le sérum des cancéreux et 67,I°/o avec le sérum gravidique.En dehors de leur manque de spécificité ces procédés sont, en outre, très tardifs.

CHERCHE DE L'ANTICORPS AVEC UN ANTIGENE SPECIFIQUE -

L'antigène spécifique est, d'après BINDER, une illusion. Il est difficile de séparer le tissu tumoral pur, car il est mélangé au tissu nécrosé et aux tissus sains environnants.

Les méthodes les plus anciennes sont celles de SIMON et THOMAS (1908), avec des extraits phéniqués; puis RAVENNA, SALOMON et RANZI, SISTO et JONA, WEINBERG, et MELLO, LIVIERATO, MARTENS, KULMAN, V. BERGMANN, KEUTKE, avec des extraits aqueux.

VON DUNGERN utilise les extraits alcooliques et acétoniques sensibilisés par la cholestérine, PERETZ et NEWLER les urines de cancéreux.

La réaction la plus étudiée est celle de HIRSCHFELD et HALBER (1932).

SIEVERS (1934),ne confirme pas les résultats de ces auteurs puisque la réaction serait positive chez les cancéreux dans 47,2% des cas, alors qu'elle est toujours positive chez les syphilitiques et l'est encore chez 11,6% des malades non cancéreux.

De même, FLOWSZ-RUMPF et KOLODZIEJSKI, EISLER et JACOBSON, VONGUTFELD, MUNTER, LIPKIN etc.. puis ZACHO et POULSEN (1936) ont publié des résultats défavorables à cette réaction puisque sur 204 cancéreux ils n'ont obtenu que 17,5% de résultats positifs. Si ces auteurs réalisent des réactions positives chez des individus cancéreux, ils les obtiennent aussi chez des individus normaux.

ZAPHIR & HIRSCHBER (1933) donnent des résultats meilleurs : 77,7% de réactions positives chez les cancéreux et 1,5% dans les autres cas. Ils pensent qu'il s'agit là d'une réaction physico-chimique par influence sur les globulines du sérum.

ECHERCHE DE L'ANTICORPS AVEC UN ANTIGENE NON SPECIFIQUE -

VON DUNGERN (1912) emploie un extrait acétonique de globules rouges de paralytiques généraux. Il a obtenu pour 88 cancéreux 77 résultats positifs. HARA, son élève, remplace les extraits de globules rouges par une solution de maltose ou de phénol-phtaléine et n'obtient pas plus de 9% d'erreurs.

YOMANONUCHI & LYTSCHKOWSKI se servent d'une émulsion de Micrococcus néoformans de DOYEN; 144 cancéreux donnent 137

Ces nombreuses "réactions du cancer" que nous venons de passer en revue ne sont pas satisfaisantes. Nous exposerons enfin celle de GRUSKIN, qui repose sur l'assimilation de la cellule cancéreuse à la cellule embryonnaire, déjà faite, avant lui par de nombreux histologistes.

On peut, selon cet auteur, à l'aide des extraits d'organes d'un embryon, mettre en évidence la sensibilisation cancéreuse par une intradermo-réaction, par exemple. GRUSKIN est persuadé que les extraits embryonnaires constituent un antigène spécifique. Cette spécificité irait jusqu'à différencier les tumeurs épithéliales des conjonctives à l'aide d'extraits différents (foie d'embryons d'une part et cordon ombilical d'autre part).

BINDER, dans sa thèse sur les diagnostics biologiques du cancer, et en particulier l'intradermo-réaction de GRUSKIN, discute la sensibilité spécifique d'un organisme cancéreux vis à vis des extraits embryonnaires provenant de n'importe quel animal. Il émet l'hypothèse que si les cellules tumorales donnent naissance à des "produits embryonnaires" qui sensibiliseraient l'organisme, on ne peut admettre que celui-ci réagirait avec les protéines des embryons de toutes les espèces.

Or, d'après nos expériences sur les anticorps, l'objection de BINDER n'est pas à retenir , car il ne se forme pas des "produits embryonnaires" spécifiques de la tumeur, mais les tissus cancéreux comme le dit GRUSKIN peuvent être assimilés à des tissus embryonnaires ou au moins à des tissus en croissance, présentant de nombreuses divisions cellulaires, et à ce titre, peuvent faire apparaître des anticorps.

Les sensibilisations qui sont produites par l'organisme réagissant peuvent, comme nous venons de le démontrer,

être mises en évidence par une déviation du complément. L'antigène sera un extrait embryonnaire quelconque, ou même, un extrait d'un organe d'animal jeune (ou même adulte) pourvu qu'il soit riche en cellules en voie de multiplication.

La présence de ces anticorps peut donc expliquer aussi la positivité observée dans la réaction de GRUSKIN pour le 1/4 de sujets non cancéreux.

ETUDE DES SERUMS CANCEREUX VIS A VIS DES ANTIGENES ETUDIES -

Nous avons examiné 53 sérums que nous avons classés de la façon suivante :

Cancéreux non traités (36)

Cancéreux traités (19) - soit par les rayons X, soit par le radium.

Ces sérums furent, pour 80%, des sérums provenant de sujets appartenant au groupe sanguin A et, cependant, ils fixèrent, dans l'ensemble, le complément en présence de nos antigènes.

Ils furent tous essayés en présence d'extraits d'embryons.:

a) de poulet et de ses divers organes
   de bovin et de ses organes
   de souris et de ses organes
b) de thymus de veau
c) de testicule de taureau ou de bélier
d) de rein de cobaye (antigène FORSSMAN)

PRELEVEMENT : 20 cm3 de sang furent prélevés sur des sujets cancéreux pour lesquels nous avions un diagnostic anatomo pathologique et clinique certain. Suivant la technique habituelle, le caillot était décollé et le sérum décanté, centrifugé et inactivé. Une vérification du pouvoir

Cancéreux non traités.

NATURE DU CANCER	Tissus Embryonnaires									
	Extrait Total Poulet	Poumon	Foie	Rein	Rate	Coeur	Yeux	Peau	Muscle	Cerveau
1 - Sarcome du fémur.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 - Epithelioma de la lèvre.	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
3 - Epithélioma Pavimenteux stratifié spinocellaire de la face cervicale gauche.	++	+	+	+	+	-	+	-	+	+
4 - Epithelioma du larynx.	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+
5 - Epithelioma glandulaire atypique.	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+
6 - Epithelioma du rectum.	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+
7 - Epithelioma de la paroi abdominale.	+++	+	+	+	+	+	+	-	+	+
8 - Epithelioma du col utérin.	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
9 - Epithelioma cutanée de la face (récidive).	++	+	-	-	-	-	-	+	+	-
10 - Epithelioma du sein (Metastases cérébrales).	++	+	-	-	-	-	+	+	+	+
11 - Epithelioma du col utérin.	+++	+	-	-	+	-	-	-	+	-
12 - Epithelioma du col utérin.	+++	+	-	-	+	-	-	-	-	-
13 - Epithelioma du col utérin.	++	+	-	-	-	-	-	-	+	-
14 - Epithelioma du col utérin.	+++	+	-	-	-	-	+	+	-	-
15 - Epithelioma du col utérin (récidive).	++	+	-	+	+	-	+	-	+	-
16 - Epithelioma pavimenteux atypique hemiface droit.	++	+	+	+	+	-	-	-	+	+
38 - Epithelioma cylindrique typique du gros intestin.	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-
39 - Epithelioma paupière inférieure gauche et bord gauche du nez. Partie centrale de la tumeur ulcérée.	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+
40 - Epithelioma de l'oreille avec adenopathie sous-jacente.	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+
41 - Epithelioma lèvre inférieure.	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+
42 - Epithelioma pavimenteux stratifié atypique du col utérin.	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-
43 - Epithelioma du bord gauche de la langue	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-
44 - Epithelioma du larynx.	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
45 - Epithelioma du larynx.	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
46 - Epithelioma du sein droit nodule mobilisable gros ganglion sous claviculaire	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
47 - Epithelioma du vagin.	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-
48 - Epithelioma du sein petite ulcération.	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-
49 - Epithelioma pavimenteux stratifié atypique du col utérin.	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-
50 - Opérée d'un fibrome il y a 3 ans. d'épithelioma	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
51 - Masse néoplastique au T.V.	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
52 - Moluscum à la hanche gauche opéré puis récidivé. Présomption sarcome.	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
53 - Epithelioma pavimenteux stratifié de l'amygdale droite.	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-
54 - Epithelioma du larynx.	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
55 - Epithelioma cylindrique du col utérin.	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-
27 - Epithelioma utérin avec cratère. Stade IV.	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
30 - Epithelioma du col utérin.	++	-	+	-	-	-	+	+	+	+

hémolytique anti-mouton naturel était faite, et, si besoin en était, le sérum était traité par une purée de globules de mouton suivant la technique indiquée au chapitre IV.

Une réaction de KOLMER était ensuite pratiquée avec chacun de nos antigènes préparés comme pour l'examen des serums femmes enceintes avec lesquels nous faisions toujours un témoin positif.

Voici les pourcentages de positivité que nous avons obtenu :

- CANCERS NON TRAITES -

Nombre de sérums examinés avec chaque antigène : 36

/ - Antigène I et I_2

Extrait embryonnaire de poulet (voir tableau XXIII)

Extrait total	94%	de résultats positifs exacts
Poumon	72%	"
Foie	44%	"
Rein	30%	"
Rate	52%	"
Coeur	22%	"
Yeux	61%	"
Peau	52%	"
Muscle	75%	"
Cerveau	38%	"

Tableau n° XXIV

EXTRAITS DE TISSUS DE SOURIS

	NATURE DU CANCER	E.Total souris	Poumon	Foie	Rein	Rate	Coeur	Cerveau	Liquid. Amio.	Ovaires Adulte	
N°1	Sarcome du fémur	−	−	−	−	−	−	−	−	−	
N°2	Epithelioma de la lèvre	+	−	+	−	−	−	−	−	−	
N°3	Epithelioma pavimenteux stratifié spino-cellaire de la face cervicale gauche	+	−	−	+	+	+	+	−	−	
N°4	Epithelioma du larynx	+	+	−	+	+	+	+	−	−	
N°5	Epithelioma glandulaire atypique	+	+	+	+	+	+	+	−	−	
N°6	Epithelioma du rectum	+	+	−	−	+	−	+	−	−	
N°7	Epithelioma de la paroi abdominale	+	−	+	+	+	+	+	−	+	
N°8	Epithelioma du col utérin	++	+	−	+	+	−	−	−	+	
N°9	Epithelioma cutanée de la face(récidive)	+	−	+	+	−	+	+	−	>	
N°10	Epithelioma du sein (Metastases cérébrales)	+	+	−	−	−	−	−	−	−	
N°11	Epithelioma du col utérin	+	+	−	−	−	−	+	−	−	
N°12	Epithelioma du col utérin	+	+	−	−	−	−	+	−	−	
N°13	Epithelioma du col utérin	+	+	−	−	−	−	+	−	−	
N°14	Epithélioma du col utérin	+	+	+	+	−	+	+	−	−	
N°15	Epithelioma du col utérin(récidive)	+	+	−	+	−	−	−	−	−	
N°16	Epithelioma pavimenteux atypique hémiface droit	+	−	−	+	+	+	−	−	−	
N°38	Epithelioma cylindrique typique du gros intestin avec métastases	+	+	+	+	+	−	−	−	−	
N°39	Epithelioma paupière inférieure gauche et bord gauche du nez.Partie centrale de lattumeur ulcérée	+	+	+	−	+	+	+	−	+	
N°40	Epithelioma de l'oreille avec adenopathie sous-jacente	+	−	+	−	−	−	+	−	+	
N°41	Epithelioma lèvre inférieure	+	+	−	−	−	−	−	−	+	
N°42	Epithelioma pavimenteux stratifié atypique du col utérin	+	+	−	−	−	−	+	−	−	
N°43	Epithelioma du bord gauche de la langue	+	−	+	+	−	−	−	−	+	
N°44	Epithelioma du larynx	+	+	+	+	+	−	+	−	−	
N°45	Epithelioma du larynx	+	+	+	+	+	−	−	−	−	
N°46	Epithelioma du sein droit nodule mobilisable gros ganglion sous claviculaire	+	−	+	−	+	−	+	−	+	
N°47	Epithelioma du vagin	+	+	−	+	+	−	−	−	+	
N°48	Epithelioma du sein petite ulcération	+	−	−	−	−	−	−	−	+	
N°49	Epithelioma pavimenteux atypique du col utérin	+	+	−	−	−	−	−	−	+	
N°50	Opérée d'un fribrome il y a 3 ans. d'epithelioma	+	+	+	−	+	−	+	−	+	
N°51	Masse néoplastique au TV	+	+	+	−	+	−	+	−	+	
N°52	Moluscum à la hanche gauche opéré puis récidivé. Présomption sarcome	−	−	−	−	−	−	−	−	−	
53	Epithelioma pavimenteux stratifié de l'amygdale droite	+	−	+	−	+		−	−	−	
N°54	Epithelioma du larynx	+	+	+	+	+		+	−	−	
N°55	Epithelioma cylindrique du col utérin	+	+	−	−	−		−	−	+	
N°27	Epithelioma utérin avec cratère stade IV	−	−	+	+	+		+	−	−	
N°30	Epithelioma du col utérin	+	−	+	−	−	−	−	−	+	

TABLEAU Nº XXV

EXTRAITS DE TISSUS DE BOVIN

Cancéreux non traités.

NATURE DU CANCER	Tissus Embryonnaires: E.E.BOVIN total	Poumon.	Foie	Rein	Cot.Foetus	Rate	Peau	Muscle	Coeur	Cerveau	Glandes Mammaires	Ovaire	Cordon	Culture des Tissus: Coeur embryon.	Tissus en Croissance: Thymus	Tissus Adulte: Testicules	Corps jaune	Cotylédon mère.	Témoin Forssman: Rein Cobaye.
1 - L.. Sarcome du fémur	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2 - C.. ♂ Epithélioma de la lèvre.	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-
3 - M.. ♂ Epithélioma pavimenteux stratifié spinocellulaire de la face cervicale gauche	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+
4 - D.. ♂ Epithélioma du larynx.	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+
5 - P.. ♂ Epithélioma glandulaire atypique.	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+
6 - M.. ♀ Epithélioma du rectum,	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
7- C.. ♀ Epithélioma de la paroi abdominale	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-
8 - L.. Epithélioma du col utérin.	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
9 - L.. ♀ Epithélioma cutanée de la face récidive.	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	++	+	-	-	-
10- L.. Epithélioma du col utérin.	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+++	+	-	-	-
11- P.. Epithélioma du col utérin.	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	++	+	-	-	-
12- L.. Epithélioma du col utérin.	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+++	+	-	-	-
13- P.. Epithélioma du col utérin.	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
14-B.. Epithélioma du col utérin.	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+++	+	-	-	-
15- C.. Epithélioma du col utérin (récidive)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	++	+	-	-	-
16- L.. Epithélioma pavimenteux atypique hémiface droit.	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-

	gros intestin avec métastases.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+		+		+	+	+
39- L. ♀	Epithélioma paupière inférieure gauche et bord gauche du nez. Partie centrale de la tumeur ulcérée.	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-		+		-		+	+	-
40- L. ♀	Epithélioma de l'oreille avec adénopathie sous-jacente.	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-		+		-		+	-	-
41 - N..	Epithélioma lèvre inférieure.	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-		+		-		-	-	-
42 - L..	Epithélioma pavimenteux stratifié atypique du col utérin.	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-		+		+		+	-	-
43 - C..	Epithélioma du bord gauche de la langue.	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+		-		+		-	-	-
44 - L..	Epithélioma du larynx.	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-		+		+		-	-	-
45 - V..	Epithélioma du larynx.	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-		+		+		-	-	-
46 - L..	Epithélioma du sein droit nodule, mobilisable. Gros ganglion sous claviculaire.	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+		+		+		-	+	-
47 - S..	Epithélioma du vagin.	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+		+		-		-	+	+
48 - R..	Epithélioma du sein - petite ulcération.	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-		+		+		+	+	-
49 - J..	Epithélioma pavimenteux stratifié atypique du col utérin.	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-		+		+		+	+	-
50 - B..	Masse néoplasique au T.V.	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-		+		+		+	-	-
51 - D..	Opérée d'un fibrome il y a 3 ans Signe d'épithioloma.	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-		+		+		-	-	-
52 - M..	Moluscum à la hanche gauche. Opéré puis récidive. Présomption Sarcome	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-		-		-	-	-
53 - V..	Epithélioma pavimenteux stratifié de l'amygdale droite.	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-		-		+		+	-	-
54 -	Epithélioma du larynx.	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-		+		+		-	-	-
55 - P..	Epithélioma cylindrique du col utérin.	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+		-		+		+		+	+	-
27 - E..	Epithélioma utérin avec cratère stade IV.	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	4	-		+		+		+	+	-
80 - C..	Epithélioma du col utérin.	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-		+		+		+	+	-

b/ - Antigène III & III^2 (Voir tableau XXIV)

Extrait embryonnaire de souris

Extrait total	91%	de résultats positifs exacts
Poumon	61%	"
Foie	50%	"
Rein	44%	"
Rate	50%	"
Coeur	25%	"
Cerveau	52%	"
Liquide Amniotique	0%	"

c/ Ovaire de souris adulte 38% "

d/ - Antigène II et II^2 (Tableau XXV)

Extrait embryonnaire de bovin

Extrait total	94%	de résultats positifs exacts
Poumon	75%	"
Foie	44%	"
Rein	30%	"
Cotyledons foetaux	88%	"
Rate	22%	"
Peau	66%	"
Muscle	72%	"
Coeur	19%	"
Cerveau	61%	"
Glandes mammaires	41%	"
Ovaire	36%	"
Cordon ombilical	8%	"
Liquide Amniotique	0%	"

TABLEAU Nº XXVI

EXTRAITS DE TISSUS DE POULET

NATURE DU CANCER	Tissus Embryonnaires											
	E.Total Poulet	Poumon	Foie	Rein	Rate	Coeur	Yeux	Peau	Muscle	Cerveau		
17 - G.. Epithélioma pavimenteux stratifié du col utérin ayant depuis 10 jours 2 tubes du 40 mmg de Radium.	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-		
18 - C.. Epithélioma du col ayant eu du Radium depuis 20 jours puis des Rayons.	+++	-	+	+	+	-	-	+	+	-		
19 - L.. Epithélioma typique du gros intestin ayant depuis 4 jours un traitement aux rayons X.	-	+	-	+	+	+	+	-	-	-		
20 - L.. Epithélioma du sein traitement aux rayons X depuis 4 jours.	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-		
21 - G.. Epithélioma pavimenteux stratifié spino-cellulaire traitement aux rayons X depuis 20 jours.	+++	+	+	+	+	-	-	-	-	-		
22 - L.. Epithélioma pavimenteux spino-cellulaire du col et du sein - a reçu des rayons X depuis 3 mois.	++	+	+	-	-	-	-	+	-	-		
23 - D.. Epithélioma du visage. Rayons X depuis 7 mois.	++	+	-	-	+	-	-	-	+	+		
24 - L.. Epithélioma du sein en traitement aux Rayons X.	++	-	+	+	+	-	+	-	+	+		
25 - M.. Epithélioma de la gouttière pharyngolaryngée droite, envahissant la base de la langue traité par les rayons X. 1950r au total	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+		
26 - A.. Sarcome lymphoblastique. Tumeur de l'Apex. Malade traité par rayons X Cryptoleucémie globules blancs tombés à 640.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
28 - A.. Epithélioma du col, non vérifié à la biopsie. A reçu du radium depuis le matin.	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-		
29 - V.. Epithélioma pavimenteux stratifié atypique du col utérin. Pleine évolution et très rapide en traitement par les rayons X.	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+		
31 - J.. Epithélioma pavimenteux stratifié spino-cellulaire de l'oesophage. Depuis 5 mois traitement rayons X.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
32 - D.. Cicatrice frontale douloureuse Traitement aux rayons X.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
33 - B.. Epithélioma de l'estomac très étendu en traitement aux rayons X.	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-		
34 - M.. Epithélioma paupière inférieure gauche en voie de constitution.	++	+	-	-	-	-	+	+	-	+		
35 - L.. Epithélioma pavimenteux stratifié spino-cellulaire végétant de la région maxillaire postérieure. Traitement aux rayons X depuis 5 mois.	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-		
36 - L.. Epithélioma des seins. Hystérectomie pour fibrome. Ablation des 2 seins métastases lombaires. Télérundgen thérapie.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
37 - M.. Epithélioma cylindrique typique du gros intestin. Traitement rayons X depuis 3 semaines.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

TABLEAU Nº XXVII

EXTRAITS DE TISSUS DE SOURIS

NATURE DU CANCER	Tissus embryonnaires : E.Total Souris	Poumon	Foie	Rein	Rate	Coeur	Cerveau	Liqui.Amio	Tissu Adulte. Ovaires	Adulte
17 - G.. Epithélioma pavimenteux stratifié du col utérin ayant depuis 10 jours 2 tubes de 40 mmg de Radium.	-	-	-	-	-	-	-	-		+
18 - C.. Epithélioma du col ayant eu du radium depuis 20 jours puis des rayons.	+	+	-	+	+	+	+	-		+
19 - L.. Epithélioma typique du gros intestin ayant depuis 4 jours un traitement aux rayons X.	-	-	+	+	-	-	-	-		-
20 - L.. Epithélioma du sein traitement aux rayons X depuis 4 jours.	-	-	+	+	-	-	-	-		+
21 - G.. Epithélioma pavimenteux stratifié spino-cellulaire. Traitement aux rayons X depuis 20 jours.	+	+	+	+	-	-	-	-		-
22 - L.. Epithélioma pavimenteux spino-cellulaire du col et du sein. A reçu des rayons X depuis 3 mois.	+	+	+	+	+	-	-	-		++
23 - D.. Epithélioma du visage. Rayons X depuis 7 mois.	+	+	+	+	+	-	+	-		++
24 - L.. Epithélioma du sein en traitement aux Rayons X.	+	-	-	+	+	-	-	-		++
25 - M.. Epithélioma de la gouttière pharyngolaryngée droite, envahissant la base de la langue. Traté par les rayons X. 1950r au total.	+	-	+	-	-	-	-	-		-
26 - A.. Sarcome lymphoblastique. Tumeur de l'Apex. Malade traité par rayons X Cryptoleucémie.Globules blancs tombés à 640.	-	-	-	-	-	-	-	-		-
28 - A.. Epithélioma du col-non vérifié à la biopsie. A reçu du radium depuis le matin.	-	-	-	-	-	-	-	-		-
29 - V.. Epithélioma pavimenteux stratifié atypique du col utérin. Pleine évolution et très rapide en traitement par les rayons X.	+	+	+	-	-	-	-	-		+
31 - J.. Epithélioma pavimenteux stratifié spino-cellulaire de l'oesophage. Depuis 5 mois traitement Rayons X.	-	-	-	-	-	-	-	-		-
32 - D. Cicatrice frontale douloureuse traitement aux Rayons X.	-	-	-	-	-	-	-	-		-
33 - B.. Epithélioma de l'estomac très étendu en traitement aux rayons X	-	-	+	-	-	-	-	-		+
34 - M.. Epithélioma paupière inférieure gauche en voie de constitution.	+	+	+	-	+	-	-	-		+
35 - L.. Epithélioma pavimenteux stratifié spino-cellulaire végétant de la région maxillaire postérieure. Traitement aux rayons X depuis 5 mois.	-	-	+	-	-	-	-	-		+
36 - L.. Epithélioma des seins. Hystérectomie pour fibrome. Ablation des 2 seins métastases lombaires. Télérundgen thérapie.	-	-	-	-	-	-	-	-		-
37 - M.. Epithélioma cylindrique typique du gros intestin. Traitement rayons X depuis 3 semaines.	-	-	-	-	-	-	-	-		-

e/ - Autres antigènes

Thymus de veau	80%	de résultats positifs exacts
Testicules de taureau	58%	"
Corps jaune d'ovaire de vache pleine	27%	"
Cotyledons maternels	38%	"
Reins de cobaye (FORSSMAN)	13%	"
Culture de Fibroblastes	88%	"

II - CANCEREUX TRAITES -

Nombre de sérums examinés avec chaque antigène : 19

a/ - Antigène I (Tableau XXVI)

Extrait total	42%	de résultats positifs exacts
Poumon	47%	"
Foie	26%	"
Rein	31%	"
Rate	31%	"
Coeur	15%	"
Yeux	26%	"
Peau	26%	"
Muscle	42%	"
Cerveau	26%	"

b/ - Extrait embryonnaire de souris (Tableau XXVII)

Extrait total	42%	de résultats positifs exacts
Poumon	47%	"
Foie	47%	"
Rein	36%	"
Rate	26%	"
Coeur	5%	"
Cerveau	10%	"
Liquide amniotique	0%	"
OVAIRES SOURIS ADULTE	52%	"

TABLEAU

EXTRAITS DE T

Cancéreux traités.

NATURE DU CANCER	Tissus Embr							
	E.E.Bovin	Poumon	Foie	Rein	Cot.Foetus	Rate	Peau	
17 - G.. Epithélioma pavimenteux stratifié du col utérin ayant depuis 10 jours 2 tubes de 40 mmg de Radiumm	-	-	-	-	+	-	-	
18 - C.. Epithélioma du col ayant du Radium depuis 20 jours puis des Rayons.	+	-	-	-	+	-	+	
19 - L.. Epithélioma typique du gros intestin ayant depuis 4 jours un traitement aux rayons X.	-	+	+	+	+	-	-	
20 - L.. Epithélioma du sein traitement aux rayons X depuis 4 jours.	-	+	+	-	+	-	+	
21 - G.. Epithélioma pavimenteux stratifié spino-cellulaire traitement aux rayons X depuis 20 jours.	+	+	+	+	+	+	-	
22 - L.. Epithélioma pavimenteux spino-cellulaire du col et du sein - a reçu des rayons X depuis 3 mois.	+	+	+	-	+	-	+	
23 - D.. Epithélioma du visage. Rayons X depuis 7 mois.	+	+	-	+	-	+	+	
24 - L.. Epithélioma du sein en traitement depuis 7 mois.	+	+	+	+	+	-	+	
25 - M.. Epithélioma de la gouttière pharyngolaryngée droite, envahissant la base de la langue. Traité par les rayons X. 1950r au total.	+	-	+	+	+	+	+	
26 - A.. Sarcome lymphoblastique. Tumeur de l'Apex. Malade traité par rayons X Cryptoleucémie globules blancs tombés à 640.	-	-	-	-	+	-	-	
28 - A.. Epithélioma du col, non vérifié à la biopsie. A reçu du radium depuis le matin.	-	-	+	-	+	-	+	
29 - V.. Epithélioma pavimenteux stratifié atypique du col utérin. Plaine évolution et très rapide en traitement par les rayons X.	+	+	+	+	+	+	+	
32 - D.. Cicatrice frontale douloureuse Traitement aux rayons X.	-	-	-	-	-	-	-	
31 - J.. Epithélioma pavimenteux stratifié spino-cellulaire de l'oesophage. Depuis 5 mois traitement rayons X.	-	-	-	-	-	-	-	
33 - B.. Epithélioma de l'estomac très étendu en traitement aux rayons X.	-	+	+	-	+	+	+	
34 - M.. Epithélioma paupière inférieure gauche en voie de constitution.	+	+	+	+	+	-	+	
35 - L.. Epithélioma pavimenteux stratifié spino-cellulaire végétant de la région maxillaire postérieure. Traitement aux rayons X depuis 5 mois.	—	+	-	-	-	-	-	
36 - L.. Epithélioma des seins. Histérectomie pour fibrome. Ablation des 2 seins métastases lombaires. Télérundgen thérapie.	-	-	-	-	-	+	+	
37 - M.. Epithélioma cylindrique typique du gros intestin. Traitement rayons X depuis 3 semaines/	-	-	-	-	-	-	-	

N° XXVIII

ISSUS DE BOVIN

onnaires						Culture des Tissus	Tissus en croissance	Tissus Adulte			Témoin Fohssman
	Coeur	Cerveau	Glandes mammaires	Ovaire	Cordon	Coeur embryon	Thymus	Testicules	Corps jaune	Cotylédon mère	Rein Cobaye
-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-
-	-	-	-	-	-	-	+++	++	-	-	-
+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-
-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-
-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-
-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

c/ - Antigène II et II^2

Extrait embryonnaire de bovin (Tableau XXVIII)

Extrait total	42%	de résultats positifs exacts
Poumon	52%	"
Foie	52%	"
Rein	36%	"
Cotylédons foetaux	73%	"
Rate	36%	"
Peau	52%	"
Muscle	42%	"
Coeur	31%	"
Cerveau	26%	"
Glandes mammaires	42%	"
Ovaire	52%	"
Cordon	21%	"
Liquide amniotique	0%	"

d/ - Autres antigènes (Tableau XXVIII)

THYMUS VEAU	57%	de résultats positifs exacts
TESTICULES TAUREAU	31%	"
CORPS JAUNE	42%	"
COTYLEDON MATERNEL	42%	"
REIN COBAYE (FORSSMAN)	10%	"
CULTURE DE FIBROPLASTES	42%	"

Comme pour les femmes enceintes, l'embryon total de poulet et de bovin furent les meilleurs antigènes, ensuite vient l'embryon total de souris, les extraits de thymus de veau se montrent également assez bons. La peau des embryons et les divers organes ne nous apportent, pour ces malades , ni une régle particulière, ni une indication concernant la mise en oeuvre des réactions de sérologie.

T A B L E A U N° X X I X

	Extrait embryonnaire de Poulet.		Extrait embryonnaire de Souris.		Extrait embryonnaire de Bovin.		Thymus de Veau	Testicules de taureau
	Total	Poumon	Total	Poumon	Total	Poumon		
Sujets cancéreux non traités. Résultats positifs %.	91	65	88	57	91	74	82	48
Cancéreux traités. Résultats positifs %.	44	50	44	33	44	61	50	38

De très fort pourcentage que nous obtenons vis à vis des sérums de cancéreux non traités confirme notre hypothèse que les antigènes que nous avons choisi décèlent une multiplication cellulaire importante.

En examinant ce tableau comparatif, nous pouvons noter que, dans l'ensemble, les cancéreux traités ne fixent pas le complément; leur sérum ne contiendrait donc plus d'anticorps de multiplications cellulaires.

Or, on sait que les rayons X ou le radium arrêtent, au moins momentanément, les multiplications cellulaires.

En revanche, les 8 cas positifs que nous avons relevés avec les sérums des cancers traités méritent d'être commentés :

Les N° 18 et 21 n'avaient commencé un traitement que depuis 15 jours ou 3 semaines au plus. Le malade N°22, bien que traité depuis 3 mois, présentait un début de généralisation à partir d'un cancer du sein et du col utérin. On conçoit, donc, que le sérum correspondant soit resté positif.

TABLEAU Nº XXX

Nº des Sérums NON TRAITES / CANCERS	Taux d'alexine pur	Taux d'alexine 1/2	Taux d'alexine 1/4	Taux d'alexine 1/8	Taux des anticorps avec Antigène I pur	Taux des anticorps avec Antigène I 1/2	Taux des anticorps avec Antigène I 1/4	Taux des anticorps avec Antigène I_2 pur	Taux des anticorps avec Antigène I_2 1/2	Taux des anticorps avec Antigène I_2 1/4
Très riches en anticorps.										
17 - Métastase cranienne évolution depuis 1947.	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+
21 - Col bourgeonnant.	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+
23 - Cancer estomac entièrement généralisé	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25 - Cancer pavimenteux étendu	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+
Riches en anticorps.										
20 - Cancer sein adhérent aux pectoraux	+	+	−	−	+	+	−	+	+	−
20bis-Cancer larynx avec anorexie et dysphonie.	+	+	−	−	+	+	−	+	+	−
24 - Cancer du col avec infiltrations bourgeonnantes.	+	+	−	−	+	+	−	+	+	−
Faibles en anticorps.										
18 - Cancer du col à 70 ans récidive d'un cancer eu à 47 ans.	+	+	−	−	+	−	−	+	−	−
19 - Col bourgeonnant mais cul de sac gauche souple.	+	+	−	−	+	−	−	+	−	−
19bis- Sarcome réticulaire	+	+	−	−	+	−	−	+	−	−
22 - Tumeur paratidienne mais cellules néoplasiques insuffisamment typiques pour déterminer nature historique.	+	+	+	−	+	−	−	+	−	−
23bis-Cancer du plancher bucal mais pas de ganglions.	+	+	−	−	+	−	−	+	−	−
18bis-Versant droit du nez.	+	+	−	−	+	−	−	+	−	−
17bis-Hyperplasie épithélium pavimenteux de la langue.	+	+	+	−	+	−	−	+	−	−
25bis-Récidive sein gauche après 11 ans.	+	+	+	−	+	−	−	+	−	−
Nuls en anticorps.										
A.- Ulcération cicatrise d'il y a 23 ans (ablation ovaire).	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
B.- Tumeur sein droit révelée non cancéreuse à la biopsie.	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
C.- Pronostic cancer foie en fait simple cyrrhose.	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
D.- Lymphogranulomatose.	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−

CANCERS TRAITES										
E. - Epithelioma pavimenteux	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
F. - Cancer du col utérin	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
G. - Cancer du larynx	+	+	−	−	+	−	−	+	−	−
H. - Sarcome fibroblastique du fémur	+	+	−	−	+	+	−	+	+	−

Le sujet 23 avait un cancer du visage, traité depuis 7 mois.

Sur le patient 24 nous n'avons pu collecter aucun renseignement.

Le cancéreux N° 25 présentait une récidive et son traitement antérieur remontait à 1950.

Le 29 était en pleine évolution, malgré tous les traitements.

Le 34, bien que recevant des rayons régulièrement, montrait un cancer du pied en voie de constitution.

Après avoir terminé l'étude de cette série de sérums cancéreux, nou avons pu obtenir de l'hopital de CAEN, par l'intermédiaire de Monsieur le Docteur JACOB, Directeur du Centre anti-cancéreux Régional, auquel nous exprimons notre gratitude, 23 sérums supplémentaires de cancéreux. 19, de ces malades avaient eu une biopsie indiscutable, et 4 furent examinés, par nous, avant d'avoir reçu la confirmation du diagnostic clinique.

Nous avons repris notre réaction de sérologie et nous avons essayé pour chacun d'eux de faire un titrage de complément et un titrage des anticorps contenus dans leur sang.

La richesse en complément du sérum sanguin serait, en effet, d'après certains auteurs en relation avec la cancérisation.

Le tableau XXX des résultats obtenus est très suggestif :

La plus forte dilution sérique ou nous ayons pu déceler la présence d'alexine a été de 1 pour 8. Très fréquemment, nous n'avons trouvé de complément que dans les dilutions au $\frac{1}{2}$ et plus rarement, le complément était décelé dans les dilutions 1 pour 4

La force du complément au 1/4 et au 1/2 correspond, en général, au taux trouvé dans les sérums d'individus non malades. Si l'excès de complément était un signe certain de cancer, nous ne devrions donc ne retenir que les sérums où le taux de complément était de 1 pour 8.

Nous avons constaté deux fois la présence du complément jusqu'à la dilution au 1/8. Or, l'un d'eux ne présentait pas d'anticorps de cytopoïèse.

Trois autres, eux correspondaient à des cancéreux, dont le sérum était riche en anticorps, c'étaient les N° 23, 21 et 25.

Les autres sérums, au contraire, avaient un taux d'anticorps très faible ou même nul, c'étaient les N° 22, 25 Bis, 17 bis et D.

Nous ne pouvons donc pas, comme nous l'escomptions, coupler les deux réactions, afin d'obtenir un diagnostic plus sûr, puisqu'en résumé nous avons eu :

Pour 2 sérums, un taux d'alexine au 1/8 et l'un d'eux ne présentait pas d'anticorps.

Pour 5 sérums, un taux d'alexine au 1/4. Deux, étaient riches en anticorps, et, pour trois, les anticorps étaient encore décelables.

Pour 16 sérums, un taux d'alexine au $\frac{1}{2}$. Parmi ceux-ci, un sérum était riche en anticorps, puisqu'il fixait le complément au 1/4. 4 sérums fixaient le complément jusqu'au 1/2; 6 sérums fixaient le complément seulement à l'état pur enfin, 5 derniers sérums ne permirent de déceler aucun anticorps. (Voir tableau XXX

Les sérums positifs, riches en anticorps provenaient tous, en général, de cancers à un stade avancé. Les sérums qui fixèrent le complément jusqu'à la dilution au 1/4, (N° 27,

21, 23, 25) correspondaient à des cancéreux qui étaient, pour la plupart, à un stade de généralisation avec métastases.

Les sérums où les anticorps n'étaient décelables que jusqu'à la dilution au $\frac{1}{2}$ étaient (20, 20 Bis et 24) provenaient de cancéreux dont les tumeurs avaient des adhérences ou des infiltrations.

Les sérums où les anticorps n'apparaissaient que dans le 1er tube de la réaction (sérum pur) (N° 18, 19, 19 Bis, 22, 23 bis, 18 bis ; 17 bis et 25 bis) correspondaient à des cancéreux ayant des récidives, toujours tardives, ou à des cancéreux dont le cancer était encore en voie de formation ou, tout au moins, n'était pas accompagné d'hypertrophie ganglionnaire, ou encore, dont les tissus n'étaient pas infiltrés.

Les sérums où nous n'avons pu déceler les anticorps méritent d'être notés :

Le Sérum A correspondait à un sujet porteur d'une ulcération d'une cicatrice faite il y a 23 ans (ablation d'un ovaire)

Le sérum B provenait d'une femme présentant une tumeur du sein droit qui s'est révélée non cancéreuse à la biopsie qui fut faite après notre examen.

Le Sérum du sujet C pour lequel un diagnostic de suspicion de tumeur cancéreuse avait été posé , a subi une opération du foie et l'on ne trouva qu'une cirrhose. (Le sérum C était négatif).

Le Sérum D provenait d'une lymphogranulomatose. Là, aussi nos résultats étaient particulièrement intéressants, puisqu'ils devancèrent les renseignements histologiques.

Dans la série des individus traités aux rayons X ou au radium, voici les résultats trouvés pour les quatres derniers sérums que nous avons reçus :

Sur les quatre sérums de cancéreux ayant reçu des rayons X, nous en avons trouvé deux négatifs. Le 3ème, qui provenait d'un malade au stade de la généralisation, nous donna un résultat positif dans un seul tube. Le 4ème sérum fut le seul à fixer le complément, après dilution au $\frac{1}{2}$. Le malade , malgré le traitement , était dans un état désespéré. (voir tableau XXX)

En groupant nos premiers et nos derniers résultats nous pouvons en tirer quelques conclusions préliminaires, qu'une étude, plus poussée, portant sur de plus nombreux cas, permettra peut-être de mieux étayer.

Ou bien, les rayons reçus étaient trop récents ou en dose encore insuffisante, ou bien le cancer, très évolué, était en pleine généralisation, d'où développement continu de cellules.

Sans être trop affirmatif on pouvait penser que les anticorps ne persistent qu'en fonction des multiplications encore actives.

Au début d'un traitement, la réaction est souvent anéantie par suite de l'arrêt des mitoses, puis, peut redevenir positive dans les mois suivants.

Les cancers non traités donnent, au contraire, des résultats positifs quasi-constants.

Nous ne pouvons cependant, pas dire que nous puissions donner une indication absolument sure pour un diagnostic, étant donné le nombre important de sujets auxquels la réaction peut s'appliquer. Tout à fait, à la fin de la vie le pourcentage des anticorps est très bas.

Un vieillard ne devant donner aucune réaction en présence d'un extrait embryonnaire serait-il cancéreux si par hasard il donnait un résultat positif à un âge avancé?

Nous avons vérifié cette hypothèse en dosant le même jour les anticorps chez un individu porteur d'un cancer et chez un individu normal d'un âge correspondant.

Chaque fois que nous avons constaté des néoplasmes sur des individus agés de 65 ans à 80 ans et même au delà, les sérums cancéreux ont toujours été et dans tous les cas, nettement positifs, tandis que les sérums des vieillards s'avéraient négatifs, dans , 90% des cas au moins.

Nous avons donc examiné une dizaine de vieillards cancéreux en présence de l'antigène I que nous devons considérer comme étant le plus actif. Nos résultats sont consignés dans le tableau XXXI ci-dessous.

Nos essais antérieurs portaient pour la plupart sur des vieillards normaux, sur des femmes; en effet, comme nous l'avons expliqué au chapitre IV, les sérums de femmes jeunes que nous avions eu à notre disposition, auraient pu être des sérums de femmes enceintes; de ce fait, nous avons toujours opéré sur des sérums d'hommes, afin d'éliminer cette cause d'erreur dans l'établissement de notre statistique des sérums normaux. On pouvait se demander si les femmes, du fait de leur constitution, étaient susceptibles de posséder toujours des sérums réagissant vis à vis d'un extrait embryonnaire.

Nos dernières expériences sur les vieillards démontrent que l'on peut observer, chez la femme, comme chez l'homme, une chute d'anticorps totale que nous pouvons affirmer être dûe à l'âge et non au sexe.

TABLEAU N° XXXI

Vieillards cancéreux non traités.	AGE	ANTIGENE I	ANTIGENE I_2
Epithelioma de l'utérus	73 ans	++	++
Epithelioma de l'abdomen	73 -	+	+
Epithelioma cutané	79 -	+	+
Epithelioma utérin	67 -	++	++
Epithelioma hémiface gauche durant depuis 12 ans.	77 -	+	+
Epithelioma du rectum	63 -	++	++
Epithelioma de l'utérus	65 -	+	+
Epithelioma du rectum	68 1/2	++	++
Epithelioma du col utérin	62 -	+	+
Epithelioma de l'utérus	60 -	+	+
Vieillards normaux ♂			
1 - A.....	74 -	-	-
2 - B.....	74 -	-	-
3 - C.....	79 -	-	-
4 - D.....	66 -	-	-
5 - E.....	77 -	-	-
6 - F.....	64 -	-	-
7 - G.....	65 -	-	-
8 - H.....	67 -	-	-
9 - I.....	60 -	-	-
10 - J.....	59 -	-	-
Vieillards normaux ♀			
11 - K.....	74 -	-	-
12 - L.....	74 -	-	-
13 - M.....	78 -	-	-
14 - N.....	70 -	-	-
15 - O.....	77 -	-	-
16 - P.....	72 -	-	-
17 - Q.....	82 -	-	-

En conclusion, il semble encore prématuré d'indiquer le rôle que,pourra jouer le dépistage par déviation du complément, des anticorps caractéristiques d'une cytopoïèse, dans la lutte contre le cancer. De très nombreuses études sont, encore, nécessaires à cet égard pour préciser de multiples points de détail. Peut être, pourrait-on utiliser la réaction sérologique à l'antigène embryonnaire pour poser le diagnostic en ce qui concerne les vieillards. Peut-être, pourra t-elle s'avérer d'une certaine utilité dans le contrôle thérapeutique de l'application des traitements radiologiques.

De toutes façons, du point de vue général, le cas du cancer ne peut être considéré que comme une application, un cas particulier, du principe de la formation d'anticorps comme réponse de l'organisme à des multiplications cellulaires importantes, au même titre que celles qui sont observées au cours de la croissance, ou la gestation, par exemple.

- CONCLUSIONS GENERALES -

A l'occasion de la division, il se fait un remaniement profond des constituants cellulaires, notamment de la chromatine. L'azote nucléoprotéique, en particulier, est abondant dans les tissus à très nombreuses mitoses; et dans les cellules jeunes, le rapport nucléopasmatique est fort différent de celui des cellules âgées. Il s'ensuit que dans un organe où les multiplications sont abondantes, la modification physico-chimique est telle, qu'à partir d'une certaine valeur, elle peut influencer le pouvoir antigénique.

Nous avons pris , comme type de tissu riche en cellules en division, des embryons de poulets de 11 jours. Injecté par nous à des lapins, cobayes, rats, l'extrait a fait apparaître, dans les délais normaux, un anticorps, facile à mettre en évidence par la réaction de KOLMER ou de CALMETTE-MASSOL. Nous l'avons également mis en évidence par une réaction de floculation. Le produit initial constituait donc un antigène vrai et non un simple haptène. Avec le même antigène, on peut alors révéler des anticorps naturels préexistant dans certains serums.

Mais les anticorps, dont nous constatons ainsi la présence, doivent être considérés, non seulement, comme correspondant à l'extrait injecté, mais surtout, comme apparus en réponse de l'organisme à de nopbreuses divisions cellulaires; ils sont alors spécifiques d'une fraction antigénique qui doit se trouver, aussi, dans d'autres tissus riches en mitoses.

C'est ainsi que nous avons pu utiliser, pour révéler les mêmes anticorps, des extraits d'embryons de veaux, qui sont aussi remarquables que les embryons de poulet, des extraits d'embryons de rats , de souris, (les extraits d'embryons de cobayes sont anticomplémentaires), de cotylédons foetaux de bovins, mais aussi des extraits de thymus de veaux et de poulains, qui sont d'autant plus actifs qu'ils ont été prélevés sur des animaux plus jeunes, ou de testicules de taureaux, béliers, rats et souris adultes. Avec les antigènes ci-dessus, nous avons produit, sur des animaux de laboratoire, les anticorps correspondants et vérifié qu'ils pouvaient être décelés par réactions croisées. Les résultats comparés obtenus dans la recherche des mêmes anticorps, mais naturels, des sérums humains et animaux ne sont pas toujours tout à fait superposables, parce qu'à côté de la fraction commune, souvent dominante, existent aussi des fractions antigéniques différentes selon les organes ou l'espèce. En tout cas, la gelée de WHARTON, substance anhiste, n'a pas d'action antigène.

Les raisons du pouvoir antigénique de ces tissus au cours de multiplications cellulaires doivent être trouvées, en partie au moins, dans la destruction des cellules qui accompagne inévitablement les régénérations dans un tissu en pleine cytopoïèse. C'est ainsi que l'apport à des plaies de germes nécrosants (staphylocoque, bacille de WELCH), ou l'entretien de ces traumatismes par arrachage des croûtes, augmente très nettement la production des sensibilisatrices.

Nous avons localisé le pouvoir antigénique dans quelques régions des embryons : chez le poulet, la peau et le poumon se sont montrés remarquables; le cerveau et le foie, bons; les reins médiocres; le coeur dénué de tout pouvoir. Expérience tout à fait démonstrative, nous avons réalisé une culture sur lames et en tubes roulants à partir de ce myocarde. Les divisions y deviennent alors fréquentes; les fibroblastes prenant rapidement le dessus sur les cellules musculaires, tandis que le tissu acquiert une action antigénique très nette. Dans l'embryon de veau, le testicule s'est révélé excellent; le thymus, le poumon, le foie, les reins, la rate, très bons. Chez les embryons de souris et de rats, les poumons et le foie sont les meilleures sources.

Sans avoir encore réalisé une séparation chimique très fine, nous avons, cependant, constaté que le pouvoir antigénique des extraits de thymus de mammifères et d'embryons de poulet était détruit par chauffage à 100° C pendant une demi-heure et qu'il était lié à la fraction protéique, essentiellement nucléoprotéique. L'acide thymonucléique seul, obtenu selon la technique exposée par THOMAS n'a pas d'effet antigénique.

D'autres essais nous ont montré, aussi, qu'il s'agissait d'un antigène totalement différent de celui de FORSSMAN:

- l'antigène actif peut être choisi chez des animaux dépourvus de l'antigène de FORSSMAN et possédant, au contraire, l'anticorps (embryon de veau).

- des sérums riches en anticorps, après saturation par de l'antigène de FORSSMAN, restaient, ensuite, entièrement positifs.
- les anticorps caractéristiques d'une cytopoïèse ne sont pas liés chez l'homme aux groupes sanguins B et O, comme les anticorps FORSSMAN.
- le cobaye, bien que possédant déjà l'antigène F, réagit admirablement à l'injection des antigènes renfermés dans les tissus en multiplication cellulaire.
- l'antigène F est thermostable, ceux de cytopoïèse sont détruits par chauffage d'une demi-heure à 100° C.

Un organisme complexe comme un mammifère constitue un assemblage d'organes et de tissus qui, en dehors des mécanismes régulateurs d'ensemble, ont conservé une certaine autonomie comme en témoignent les croissances relatives dans le temps. Une poussée cytopoïétique suffisamment importante pourra donc faire apparaître des anti-corps qu'il sera possible de déceler par une réaction sérologique utilisant un certain nombre d'antigènes, pourvu que ceux-ci aient été préparés à partir de tissus riches en mitose comme ceux dont nous avons donné la liste ci-dessus. Les extraits aqueux, ou même, la fraction précipitée extemporanément par l'acide acétique nous ont paru leurs meilleures formes.

Sur des rats, chez lesquels la recherche de ces anticorps était au départ négative, nous avons constaté que l'ablation de lambeaux cutanés de taille croissante aboutissait, à partir d'une surface de 4 cm2, au bout de 15 jours, à la formation des anticorps, au moment de la pleine cicatrisation.

Des plaies chirurgicales, des exerèses musculaires rendirent d'autres rats positifs. Mais ces anticœrps sont assez fugaces : s'il n'y a pas de nouvelle intervention, ils disparaissent un mois après la fin de la cicatrisation. Les mêmes expériences ont été reproduites chez le cobaye et donnent les mêmes résultats.

De la même façon, l'excitation des organes hématopoïetiques par quatre saignées successives chez des rats, cobayes, lapins, chèvres, vaches, chevaux, à fait apparaître les sensibilisatrices, chez des sujets qui n'en avaient pas, au préalable, dans leur sang. Nous avons, en outre, constaté que le temps de maintien de ces anticorps variait avec l'espèce : rapide chez le cobaye, un peu moins rapide chez le rat, la négativation est plus lente chez la Vache, le Cheval et surtout la Chèvre.

Dans les sérums d'humains convalescents de poliomyélite, oreillons, fracture, nous avons encore retrouvé ces mêmes anticorps, parfois en assez grande quantité.

Un bel exemple de multiplication cellulaire est représenté par la gestation. Sur plus de 500 sérums de femmes enceintes, nous en avons constaté, suivant la date, de 85 à 98% de positifs, le jour de l'examen.

Au cours de la vie, on sait que les poussées de cytopoïèses sont très fréquentes, sinon constantes, chez les jeunes, pour diminuer chez les adultes et devenir rares et presque disparaître chez les vieillards. Une exploration des anticorps naturels, indices d'une multiplication cellulaire devait être instructive.

Sur 300 sérums humains, nous en avons trouvé 85% de positifs, au moment de l'analyse, entre 10 et 20 ans; 66% entre 20 et 40 ans; 33% entre 40 et 50 ans; 25% de 50 à 70 ans et 15% au delà. Compte tenu des causes individuelles qui excitent, momentanément, une prolifération tissulaire (cicatrisation, hématopoïèse, etc...), on peut donc démontrer sur une population d'ensemble, l'existence d'une sorte d'âge physiologique caractérisé par les possibilités de reproduction des cellules estimées elles-mêmes à l'aide d'une réaction sérologique qui utilise un hétéroantigène extrait d'un tissu en multiplication. Notons que les anticorps que nous étudions tendent à disparaître chez les vieillards, alors que le taux global des globulines augmente.

Un travail systématique semblable a été entrepris chez les animaux, mais il y faut tenir compte de variations d'espèces: le Cobaye fabrique très peu de ces anticorps, comme, d'ailleurs, de globulines sériques, notamment Y. Le sang du Lapin est très facilement positif, ce qui correspond peut-être à la très grande facilité de cicatrisation de cet animal. Interviennent encore, avec chaque espèce, des variations dans le temps de maintien des anticorps provoqués expérimentalement.

La chute, puis la quasi-disparition des anticorps témoins d'une cytopoïèse accompagnant le vieillissement, il est possible de suivre leur réapparition sous l'influence de certaines causes pathologiques, néoplasmes par exemple. Nous avons, chez l'homme, trouvé 91% de sujets néoplasiques non traités positifs, quel que soit leur âge.

Chez les individus âgés (de 65 à plus de 85 ans), les sensibilisatrices sont présentes dans le sang de ces malades dans 100 % des cas, alors que les sujets sains du même âge sont négatifs dans 90% des cas. Après traitement par des radiations, qui inhibent les mitoses, la proportion de ces mêmes malades positifs tombe à 44%. Parmi ces derniers, se trouve un grand nombre d'incurables, de cas en pleine généralisation, de récidives.

Nous avons traité, enfin, des rats et souris, négatifs au départ à nos réactions sérologiques, par des applications cutanées de méthylcholantrène. Dès que la peau est devenue fibreuse, épaissie et forme un début de tumeur, bien qu'encore non cancéreuse, nous avons vérifié l'apparition des anticorps de cytopoïèse. Après ablation de la masse primitive et du pourtour réactionnel, ces sensibilisatrices disparaissent.

Il semble donc bien que, lors de poussées de cytopoïèses, il apparaisse des anticorps dont nous avons vérifié qu'ils étaient différents de ceux de FORSSMAN et que l'on peut déceler par un antigène renfermé dans de nombreux tissus en cours de multiplication cellulaire. Ces anticorps sont presque constants pendant toute la jeunesse; on les observe aussi lors de cicatrisation suffisamment étendue, de régénération sanguine, de certaines convalescences, de gestation, de tumeurs. Au cours de la vie adulte et de la vieillesse, ils diminuent progressivement. On peut en provoquer, expérimentalement, l'apparition , chez les animaux.

TABLE DES GRAPHIQUES

Pages

Courbe G - Régénération sanguine après Saignées et Sérologie comparée 49

Courbes A - B - C - D - E - F - Cicatrisation des plaies témoins et des plaies infectées par des germes microbiens ou entretenues par traumatisme..... 63

Courbe I - Influence des injections de sérum normal et de sérum riche en anticorps anti embryonnaire sur la régénération sanguine..... 71

Courbes H - J - K - Influence des injections de sérum normal et de sérum riche en anticorps anti embryonnaire sur la cicatrisation des plaies 72

Courbes M' Pouvoir antigénique des extraits embryonnaires de poulet, vis-à-vis des femmes enceintes 82

Courbes N' Chute des anticorps de cytopoïèse chez les individus normaux 87

Courbe M - Pouvoir antigénique des extraits embryonnaires de poulet, de thymus de veau et de testicule de taureau vis à vis des femmes enceintes.....II7

Courbe N - Tableau comparatif de la chute des anticorps décelée par des extraits embryonnaires de poulet, de thymus de veau et de testicule de taureau vis à vis des individus normaux....II7

TABLE DES MATIERES

Pages

INTRODUCTION I

Chapitre I

I RAPPEL SOMMAIRE DE QUELQUES GENERALITES 5

II EXPERIENCE INITIALE ..... IO

Mise en évidence du pouvoir antigénique des extraits embryonnaires. Elaboration des anticorps II

a) Préparation de l'extrait embryonnaire de poulet II

b) Titrage de l'antigène I2

c) Elaboration des anticorps in vivo et révélation par fixation du complément.. I4

d) Révélation des anticorps par floculation I8

Hypothèses de travail 2I

Notation des antigènes 23

Chapitre II

ETUDE COMPAREE DES ANTIGENES ADOPTES ET DES ANTIGENES DITS DE " FORSSMAN ".. 24

Chapitre III

ETUDE DE L'ANTIGENE I - SON FRACTIONNEMENT 32

I Préparation d'un antigène aqueux..... 32
(Résistance au gel - Résistance à la chaleur)

II Essais de fractionnement 34
(Préparation par précipitation par l'acide acétique - Par l'alcool [illegible] tifié)

III Préparation d'antigènes secs 39
(Par séchage sous vide sans lyophilisation - Selon CASALS).

Chapitre IV

PRODUCTION EXPERIMENTALE DES ANTICORPS... 42

I Hématopoïese 43
(Saignées régulières de 3 et 5 cm^3 - de IO cm^3 - Saignées massives rapides - Prélèvement minimum pour obtenir la formation d'anticorps).

II Expérience de cicatrisation 55
(Ablation de peau - Suppression d'une jugulaire par ligature - Ablation d'un muscle).

III Entretien des plaies 60
(Par infection avec diverses bactéries - Par arrachage quotidien de la croûte -

IV Influence des injections de sérums riches en anticorps sur la régénération sanguine... 68

V Influence des injections de sérum normal et de sérum riche en anticorps sur des cobayes sur lesquels on a pratiqué une biopsie cutanée 72

V Recherche des anticorps dans divers sérums thérapeutiques 76

Chapitre V

ETUDE DES SERUMS DE FEMMES ENCEINTES ET DE SERUMS NORMAUX 78

(Rapport avec l'âge de la gestation - avec l'âge de la femme - avec les groupes sanguins).
Etude comparée des sérums de femmes enceintes vis-à-vis des antigènes I et I_2 et de l'antigène F..... 83
Etude des sérums normaux vis-à-vis des antigènes I et I_2..... 84

Chapitre VI

ETUDE DE DIFFERENTS TYPES D'ANTIGENES EMBRYONNAIRES 89

Etude des différentes parties de l'embryon de poulet 90

Variations de l'espèce d'extrait embryonnaire (embryon de bovin)..... 92

Embryons de souris et de rats.....I02

Embryons de cobayes I04

Chapitre VII

PARALLELISME DU POUVOIR ANTIGENIQUE DES BROYATS D'EMBRYONS ET DE TISSUS NON EMBRYONNAIRES.....I06

Etude du thymus de veau et de poulain comme antigène I07

Recherche sur l'acide thymonucléique comme antigène I09

Etude des extraits de testicule de taureau et de bélier comme antigène..... II4

Chapitre VIII

POUVOIR ANTIGENIQUE DES TISSUS MIS EN CULTURE..... II8

(Techniques générales - Expérience sur les cultures de tissus en vue de l'obtention d'un antigène - Durée du pouvoir antigénique des cultures - Variation du tissu mis en culture)

Chapitre IX

CANCERISATION ARTIFICIELLE DES RATS ET DES SOURIS I28

Chapitre X

ETUDE DES SERUMS CANCEREUX I33

Recherche de l'anticorps avec un antigène spécifique I34

Recherche de l'anticorps avec un antigène non-spécifique I35

(Recherche de l'antigène - Etude des sérums cancéreux vis-à-vis des antigènes étudiés - Prélèvements, pourcentages de positivité et observations cliniques).

CONCLUSIONS GENERALES I5I

BIBLIOGRAPHIE I58

-:-:-:-:-:-:-:-:-

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

ASCOLI. - 1934. Nouvelles recherches séro-hématologiques chez les cancéreux. Bioch. e Ter. Sper. Milan, p. 343.

BARRAL. - 1935. Réaction de déviation du complément à l'aninsuline. Bull. Ass. Fr. L. Cancer, p. 723.

BARSKI (G.), MAURIN (J.), WIELGOSZ (G.), LEFINE (P.). - 1951. Ann. Inst. Pasteur, 81, p. 9.

BENETATO. - 1933. pH sanguin chez les cancéreux. C.R. Soc. Biol., 114, p. 329.

BERGMANN (W.). - in Binder.

BERT (P.). - in Salomon.

BERTRAND (L.). - in Salomon.

BINDER (K.). - 1937. Les diagnostics biologiques du cancer et en particulier l'intradermo-réaction de Gruskin. Thèse Dt. en Méd., Nancy.

BORDAS et TOUPLAIN. - 1921. in Kling.

BORDET (J.). - 1939. Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses. 1 vol., Masson éd., Paris.

CARREL et BURROWS. - 1910. La culture des tissus adultes en dehors de l'organisme. C.R. Soc. Biol., 69, p. 293.
1911. J. Exp. Méd., 13, p. 387.

CASALS (J.). - 1949. Proc. Soc. Exp. Biol. Méd., 70, p. 339.

COLLIER (W.A.). - 1934. L'importance du pH dans l'adénocarcinome de la souris d'Ehrlich. Zeitschr. f. Krebsf., p. 585.

DOERR (R.). - 1926. Ueber die Antigenfunktionen des Forsmanschen lipoids und anderer lipoider Haplens. Zeits. f. Immunit., 45, p. 170.

DOERR et PICK. - in Dujarric de la Rivière et Kossovitch.

DREVON (B.). - 1953. Le "diagnostic chimique" des états cancéreux. Réflexions sur quelques méthodes de laboratoire. Biol. Méd., 42, p. 382.

DUFOUR (J.). - 1939. Pouvoir anti-complémentaire des serums. Thèse Dt. en Pharm., Paris.

DUJARRIC de LA RIVIERE (R.) et KOSSOVITCH (N.). - 1937. Antigènes et hétéro-antigènes et Haptènes. 1 vol., J. B. Baillière et Fils éd., Paris.

DUJARRIC de LA RIVIERE (R.) et EYQUEM (A.). - 1954. Les groupes sanguins des animaux. 1 vol., Flammarion, éd., Paris.

EHRLICH. - in Dujarric de la Rivière et Kossovitch.

EISLER et JACOBSON. - in Binder.

FLOWSZTRUMPF et KOLODZIEJSKI. - in Binder.

FORSSMAN (J.). - 1911. Die Herstellung hochwertiger spezifischer Schafhämolysine ohne Verwertung von Schafblut. Biochem. Zeits, 307, p. 78.

- 1928. Die heterogenetischen Antigene, besonders die Sog. Forssman Antigene ihre Antikörper. In Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Kolle et Wassermann, 3e éd., 3, p. 469.

- 1929. Einige Immunitats fragen im Lichte der heterogenetischen. [illegible] Forschung. Wien. kl. Woch., p. 669.

GEY (G.O.). - 1933. An improvised technic for massive tissus culture. Amer. J. Cancer., 17, p. 752.

GEY (G.O.) et GEY (M.). - 1936, [illegible] Amer. J. Cancer, 27, p. 45.

GEY (G.O.) et BARY (F.E.). - 1939. Bull. Johns Hopkins Hosp., 65, p. 393.

GREEN (M.). - in Binder.

GRIMARD (L.). - 1935. Passage d'une sensibilisatrice de la poule à l'embryon de poulet, C.R. Soc. Biol., 118, p. 967.

GRUSKIN (B.A.). - 1929. Serum-test for the Diagnosis of Cancer based on a new Theory of Etiology. Am. J. Med. Sc., p. 476.

- 1932. Intradermal test for the Determination of Malignancy. J. of Lab. and Clin. Med., p. 12

- 1933. Allergic phenomena in malignancy. Penna. Med. J., 62, p. 573.

GUTFELD (F.).-1922. Ueber die Konstitution isogenetischen und heterogenetischer. Hammelbluthämolysine und ihrer Antigene. Zeits. f. Immunit., 34, p. 524.

HANKS (J.H.) et WALLACE (R.E.). - 1949. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 71, 196.

HARA. - in Binder.

HARRISSON (R.G.). - 1907. Observations on the living developing nervefibre. Proc. Exp. Biol. et Med., 4, p. 140.

HIRSCHFELD (L.). - 1936. Ueber die theoretischen Grundlagen der sero-diagnostic des Krebses. Rapport IIe Congrès de Lutte contre le Cancer. Bruxelles.

HIRSCHFELD (L.) et HALPER (B.). - 1932. Les propriétés sérologiques des tissus embryonnaires et cancéreux. Med. doswiad. i. spol., p. 840.

HIRSCHFIELD (S.), DUBOFF (G.) et WEST (P.). - 1946. Cancer Res., 6, p. 57 et 224.

JACOBSTHAL. - 1910. Munch. Med. Woch., 47, p. 689.

JACQUET (J.). - 1955. La production d'auto-anticorps non pathologiques est-elle possible ? Hypothèses et conséquences. Rev. Path. Gén. et Compar., 55.

JACQUET (J.) et STEEG (L.). - 1954 (a). Sur un antigène renfermé dans différents tissus en cours de multiplication cellulaire. C.R. Ac. Sc., 239, p. 626.

(b). Sur les anticorps témoins d'une multiplication cellulaire. C.R. Ac. Sc., 239, p. 650.

- 1955 (a). Sur le pouvoir antigène des tissus en cours de cytopoïèse. Rôle des produits de désintégration cellulaire. C.R. Ac. Sc., t. 240.

(b). Recherches sur les causes du pouvoir antigénique de certains tissus en cours de multiplication cellulaire. Production expérimentale des anticorps correspondants. Rev. d'Immunol. (en cours de parution).

JOLLY (J.). - 1903. in Salomon.

- 1923. Traité technique d'Hématologie. 1 vol., Maloine, éd., Paris.

KENNAWAY. - in Bordet.

KEUTKE. - in Binder.

KIDD. - 1945. in Dujarric de la Rivière et Eyquem.

KIDD (J.) et Friedemald. - 1942. J. exp. Med., 76, 557.

KLING (A.). - 1941. Méthodes Actuelles d'Expertises. 2e édition. Dunod éd., Paris.

KOLMER et BOERNER. - 1941. Approved Laboratory Technic. Appleton Century C° éd., New-York.

KULMAN. - in Binder.

1921 (a)-
LANDSTEINER (K.).-Ueber heterogenetisches Antigen and Hapten, Biochem. Zeits., 69, p. 294.

(b) - On the Formation of heterogenic antigen by combination of Hapten and protein. Proceed. of the Konigl. Akad. van Vetens. Amsterdam., 23, p. 1166.

1922. - Ibid., 24, p. 327.

1924. - On the specificity of agglutinins and precipitins. J. of Exp. Med., 40, p. 91.

LANDSTEINER (K.) et SIMMS. - 1923. Production of heterogenetic antibodies with mixtures of the binding part of the antigen and protein. J. of Exp. Med., 38, p. 127.

LAPORTE et HARDRE de LOOZE (L.). - 1948. Sur les différences qualitatives des serums hémolytiques. C.R. Soc. Biol., 142, p. 489.

LAZARUS (A.S.) et MAYER (K.F.). - 1939. J. Bact., 38, p. 171.

LEHMANN-FACIUS. - 1932. Klin. Woch., 11, p. 775.

LEPINE (P.) et SOHIER (R.). - 1954. Techniques de laboratoire appliquées au diagnostic des maladies à virus. 1 vol., Masson éd., Paris.

LEWIS. - 1928. Arch. exp. Zeltforsch., 7, p. 82.

LIPKIN. - in Binder.

LIVIERATO. - in Binder.

LOEBB. - 1897. in Salomon.

MARTENS. - in Binder.

MATSAMURA et HIRSCHFELD. - in Binder.

MELLO. - 1913. Etude du serum de chevaux porteurs de tumeurs malignes par la méthode de Freund et Kaminer.- C.R. Soc. Biol., 74,p. 251.

MORGENROTH. - in Dujarric de la Rivière et Kossovitch.

MUNTER. - in Binder.

NATTAN-LARRIER (L.), GRIMARD (L.) et NOUGUES (S.). - 1934. Présence d'une sensibilisatrice anti-embryonnaire dans le serum de l'enfant. C.R. Soc. Biol., 186, p. 1282.

NATTAN-LARRIER (L.) et GRIMARD (L.). - 1935 (a) -Sensibilisatrice "anti-embryonnaire" exogène et endogène dans la culture de tissus. C.R. Soc. Biol., 120, p. 862.

(b) -Présence d'une sensibilisatrice anti-embryonnaire dans le serum de lapin. C.R. Soc. Biol., 128, p. 1128.

(c) -L'âge et les variations de la sensibilisatrice "anti-embryonnaire". C.R. Soc. Biol., 119, p. 1025.

(d) -Les anticorps chez les lapins immunisés contre la tumeur de Brown-Pearce. C.R. Soc. Biol., 120, p. 1171.

NATTAN-LARRIER (L.) et GRIMARD-STEEG (L.). - 1937. Action du serum humain sur la régénération globulaire du Triton. C.R. Soc. Biol., 125, p. 954.

NICOLLE (M.). - 1920. Les antigènes et les anticorps. 1 vol. Masson, éd., Paris.

PAUL (J.R.) et BUNNELL (W.W.). - 1932. Amer. J. Med. Sc., 183, p. 90.

PAVLECH (H.M.), ARMAGHAM (V.) et OLSON (N.O.). - 1953. Collection and Storage of Chicken. Plasma for tissue culture. Science, 117, p. 156.

PERETZ et NEWLER. - 1934. in Binder.

RAKOW (A.). - 1934. Sur la réserve alcaline du sang chez les cancéreux. Zeits. f. Krebsforsch, p. 38.

RANVIER. - 1875. in Salomon.
RANZI. - in Binder.

RAPHAEL. - in Nicolle.

RAVENNA. - in Binder.

REDING. - 1932. Le métabolisme du sujet cancéreux et cancérisable. Bull. Ass. Fr. Et. Cancer, p. 399.

RIO HORTEGA. - in Binder.

ROUSSY. - 1929. Le cancer in : Traité de Médecine de Roger Widal-Teissier. Masson éd., Paris.

SALOMON. - 1933. Sur la "Ca R" de Fuchs. Munch. Med. Woch., 80, p. 469.

SALOMON (L.). - 1952. Sur la culture du virus de la fièvre aphteuse. Thèse Dt. Sc., Paris.

SAPHIR et HIRSCHBERG. - 1933. Réaction de fixation du complément. J. of Immun., p. 40.

SCHIFF (F.) und ADELSBERGER. - 1924. Ueber blutgruppensptezifische. Antikorpon und Antigene. Zeits. f. Immunit., 40, p. 335.

SCHIFF (F.) und FRIEDBERGER. - 1913 (a) - Ueber heterogenetische Antikorper. Berl. klin. Woch., p. 1557.

(b) - Ibid., p. 2328.

SIEVERS (O.). - 1934. Sur la constatation de la fonction antigénique spécifique du Cancer par la floculation. Zeits. f. Krebsf., 41, p. 307.

SIMON et THOMAS. - 1908, J. Soc. Exper. Med., 10, p. 673.

SISTO et JONA. - in Binder.

SLOSS (M.A.). - 1929. Les réactions humorales dans le cancer et le précancer. Arch. al. app. digest., p. 512.

THOMAS. - 1908. in Binder.

THOMAS (P.). - 1946. Manuel de Biochimie. , vol., Masson éd., Paris.

TSCHISTOVITCH. - in Dujarric de la Rivière et Kossovitch.

VON DUNGERN. - 1912. Séro-diagnostic du cancer. Munch. ed. Woch., p. 1093.

WEINBERG. - in Binder.

WEIL et BRAUN. - 1908. Wien. Klin. Woch., 18, p. 650.

WIELAND et DANE. - 1933. in Bordet.

WIRTH (J.) et BARSKI (G.). - 1947. Cultures épithéliales pures sur membranes plastiques sans repiquage et sans plasma. Préparation rapide de cultures colorables comme des frottis. Ann. Inst. Pasteur, 73, p. 987.

WOLLMAN et URBAIN. - 1927. Réaction de fixation dans le sarcome de Rous. C.R. Ac. Sc. 124, p. 1210.

YOMANONUCHI et LYTSCHKOWSKI. - in Binder.

ZACHO et POULSEN. - 1936. Recherches sur la réaction de Hirschfeld. Zeitschr. f. Krebsf p. 434.

ZDRAZIL (R.). - 1936. Fixation du complément avec un extrait de bile délipoïdé. C.R. Soc. Biol., 122, p. 418.

2e T H E S E

Propositions données par la Faculté

L E V U R E S

Reproduction - Développement - Génétique

Vu
Le Président de la Thèse

F. MOREAU

Vu
Le Doyen

F. MOREAU

Vu et permis d'imprimer
CAEN, le 10 Juin 1955.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université

P. DAURE